

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POST-GRADO

**Elaboración de la harina de yacón (*smallanthus
sonchifolius*) y su influencia en el crecimiento de dos
bacterias probióticas**

TESIS

Para optar el Título de Químico Farmacéutico

AUTOR

Angel Coronado Panta

ASESOR

Mg. Maria Elena Salazar Salvatierra

Lima – Perú

2013

Agradecimientos

Expresamos aquí nuestros sinceros agradecimientos a todas las personas e instituciones que colaboraron directamente para la realización de este trabajo en especial

Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) Facultad de Farmacia y Bioquímica por las condiciones y áreas proporcionadas.

A la profesora Dra. Maria Elena Salazar Salvatierra por la orientación científica y paciencia y amistad un ejemplo de profesionalismo.

A mi familia por la ayuda proporcionada en especial a mi madre Mercedes Panta de Coronado por la paciencia, los buenos consejos y el apoyo incondicional a la realización de este trabajo

A Nacia Calderón Quispe por la paciencia y compañerismos y cariño y apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	4
SUMMARY	5
I. INTRODUCCIÓN	7
III. GENERALIDADES	9
2.1. YACÓN	9
2.1.1 Yacón	9
2.1.2 Taxonomía	10
2.1.3 Descripción morfológica	11
2.1.4 Distribución geográfica y zonas de cultivo	13
2.1.5 Zonas de cultivo en el Perú	13
2.1.6 El yacón fuera de los Andes	13
2.1.7 Composición química	14
2.1.8 Composición química del yacón en tres estados de madurez	15
2.1.9 Composición de carbohidratos del yacón en tres estados de madurez	15
2.1.10 Composición de carbohidratos del yacón procedentes de diferentes zonas geográficas del Perú	16
2.1.11 Composición de minerales de yacón en tres estados de madurez	16
2.2 OLIGOFRUCTOSACÁRIDOS	17
2.2.1 Bioquímica de los oligofructanos	19
2.2.1.1 Biosíntesis y degradación	19
2.2.1.2 Propiedades fisicoquímicas básicas	21
2.2.2 Fuentes de los oligofructanos	22
2.2.2.1 Microorganismos y hongos	23
2.2.2.2 Vegetales	23
2.2.3 Aspectos nutricionales y funcionales de los oligofructanos	25
2.2.3.1 Fermentación funcionalidad como fibra dietética y efecto prebiótico	25
2.2.3.2 Funcionalidades varias	29
2.3 PROBIÓTICOS	32
2.3.1 Definición	32
2.3.1.1 Lactobacillus	33
2.3.1.2 Bifidobacterium	34
2.3.2 Aplicaciones	34
IV. PARTE EXPERIMENTAL	36
4.1 Lugar de ejecución	36
4.2 Materia prima	36
4.3 Materiales y equipos	36
4.3.1 Materiales	36
4.3.2 Equipos	37
4.3.3 Reactivos	37
4.4 Métodos de análisis	38
4.4.1 Análisis químicos	38

	Pág.
4.4.1.1 Análisis proximal	38
a. Determinación de humedad	38
b. Determinación de ceniza	38
c. Determinación de proteína	38
d. Determinación de grasa	38
e. Determinación de fibra	38
f. Determinación de carbohidratos	39
4.4.1.2 Determinación de sólidos solubles	39
4.4.1.3 Determinación de pH	39
4.4.1.4 Determinación de la concentración de azúcares	39
3.4.1.4.1 Determinación de la concentración de azúcares reductores	39
3.4.1.4.2 Determinación de la concentración de azúcares totales	40
4.4.2 Análisis físicos	40
a. Diámetro promedio	40
b. Longitud promedio	40
c. Peso promedio	40
4.4.3 Análisis microbiológicos	40
4.3.1 Efecto del crecimiento probiótico	40
4.3.2 Evaluación del crecimiento por espectrofotometría y recuento por dilución en placa	41
4.4.4 Metodología experimental	42
4.5 Descripción de las Operaciones para obtener la Harina de Yacón	43
4.5.1 Materia prima	43
4.5.2 Selección	43
4.5.3 Lavado y desinfectado	43
4.5.4 Pelado	43
4.5.5 Troceado	44
4.5.6 Escaldado o blanqueado	44
4.5.7 Reducción de tamaño	44
4.5.7.1 Para obtener yacón triturado	44
4.5.7.2 Para obtener zumos de yacón	44
4.5.7.2.1 Reducción de tamaño	44
4.5.7.2.2 Filtrado	44
4.5.8 Acondicionamiento	45
4.5.8.1 Concentración	45
4.5.9 Secado	45
4.5.10 Molienda	45
4.5.11 Envasado y sellado	45
4.5.12 Evaluación de Producto Final	45
V. RESULTADOS	46
5.1 Caracterización físico-química	46
5.2 Caracterización física	46
5.3 Influencia de la temperatura de secado	47
5.4 Caracterización del producto obtenido	48
5.4.1 Composición fisicoquímica	48
5.4.2 Determinación de concentración de azúcares totales y reductores de la materia prima y de las harinas de yacón obtenidas	49
5.4.2 Análisis microbiológico	51
VI. DISCUSIÓN	53
VII. CONCLUSIÓN	58
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
IX. ANEXOS	63

Índice de tablas

	Pág.
Tabla N°1	Composición química del yacón en tres estados de madures.
Tabla N°2	Composición de carbohidratos del yacón en tres estados de madures.
Tabla N°3	Composición de carbohidratos del yacón procedentes de diferentes zonas geográficas del Perú.
Tabla N°4	Composición del yacón de minerales de yacón en tres estados de madurez.
Tabla N°5	Características fisicoquímicas de a muestra de raíz de yacón.
Tabla N°6	Características físicas de la muestra de raíz de yacón.
Tabla N°7	Valores de peso de la muestra (gramos) a diferentes tiempos (horas).
Tabla N°8	Composición proximal de las dos muestras de harina de yacón obtenidas.
Tabla N°9	Pesos de las muestras (gramos)
Tabla N° 10	Resultados del ensayo de azucares totales (absorbancias)
Tabla N° 11	Resultados del ensayo de azucares reductores (absorbancias)
Tabla N° 12	Resultados de las muestras en porcentaje centesimal
Tabla N°13	Recuento en placa de <i>Lactobacillus acidophilus</i> sin harina de yacón y con el suplemento de ambas muestras.
Tabla N°14	Absorbancias de <i>L. acidophilus</i> sin harina de yacón y con el suplemento de ambas muestras.
Tabla N°15	Recuento de <i>Bifidobacterium brevis</i> sin harina de yacón y con el suplemento de ambas muestras.
Tabla N°16	Absorbancias de <i>B. brevis</i> sin harina de yacón y con el Suplemento de ambas muestras.

RESUMEN

El yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl) es una planta nativa de Sudamérica que en su raíz almacena los carbohidratos en forma de inulina y/o fructooligosacáridos (FOS) (polímeros de fructosa), los cuales son reconocidos como fibra dietética y prebiótico. Un prebiótico se define como un alimento no digerible que presenta un efecto favorable para la salud del consumidor, al estimular selectivamente la proliferación de un grupo de bacterias benéficas en el tracto digestivo mejorando así el balance intestinal. El presente trabajo tuvo como objetivos: optimizar las condiciones de elaboración de la harina de yacón, evaluar su contenido de azúcares y evaluar la influencia de dicha harina en el crecimiento de dos bacterias probióticas. Se realizaron dos formas de obtener la harina de yacón en la forma uno mediante una trituración de la muestra, en la forma dos se realizó un licuado, filtrado y concentración en baño de agua a 60°C hasta 20° Brix, en ambas se procedió al secado directamente en estufa, la molienda y el envasado. La cantidad de carbohidratos en la forma uno fue de 87,03% azúcares totales, 7,65% azúcares reductores y en la forma dos fue de 88,15% azúcares totales, 9,03% azúcares reductores. En cuanto a su influencia en las bacterias probióticas, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium brevis* se pudo apreciar que favorecen el crecimiento de ambas.

Palabras claves:

Fructooligosacáridos, inulina, fibra dietética, prebiótico, probiótico, curva de crecimiento.

SUMMARY

Yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl) is a plant native to South America that at its root store carbohydrates as inulin and /or fructooligosaccharides (FOS) (polymers of fructose), which are recognized as dietary fiber and prebiotic. A prebiotic is defined as roughage favorably affecting the health of consumers, by selectively stimulating the growth of a group of beneficial bacteria in the digestive tract, thereby improving the intestinal balance. This study aim is to optimize the processing conditions yacon flour sugars asses and evaluate the influence of oatmeal into the growth of two probiotic bacteria. By a design that might be considered optimum, optimize flour obtaining, by comparing the two forms obtained, by comparing both and getting an improvement in the amount of total and reducing sugars in which percentages are 88,15 and 3,09 respectively of second form to obtain the yacón flour. As for his influence on probiotic bacteria, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifiobacterium brevis* could see that yacon flour significantly improved the growth of both bacteria.

Keywords

Fructooligosaccharides, inuline, dietary fiber, prebiotic, probiotic, bacteria growth

ABREVIATURAS

Da, Dalton

FOS, Fructo-oligosacáridos

1-FFT, β -fructan-1-fructosiltransferasa

6G-FFT, 6G-fructosiltransferasa

Kcal, kilocalorías

MRS Agar, agar Man Rogosa Sharp

6-SFT, 6-fructosiltransferasa

1-SST, 1-fructosiltransferasa

INTRODUCCIÓN

El enfoque en la alimentación y la salud de las poblaciones en los países occidentales han provocado un intenso interés en la identificación de nuevos alimentos e ingredientes funcionales para prevenir enfermedades específicas (diabetes, obesidad, etc.)¹.

En América del Sur parece ser un verdadero tesoro, ya que presenta una amplia variedad de plantas y un potencial olvidado que son claramente poco utilizados. Uno de estos activos redescubierto, es el yacón (*Smallanthus sonchifolius*), que es una fuente muy abundante de fructo-oligosacáridos (FOS), que son considerados como prebióticos. Los FOS son fermentados de forma selectiva por muchas bacterias como bifidobacterium, lactobacilos, entre otros. Estas bacterias por su parte se consideran probióticos^{1,3}.

A diferencia de otras fuentes de FOS, el yacón es tan rico en ellas que una dosis efectiva está garantizada por el consumo de sólo una cantidad moderada de la raíz, que se describe ser muy agradable al paladar³.

El yacón es una raíz tuberosa oriunda de la región andina domesticada hace varios siglos por los pobladores de las culturas pre- incas. Debido a que recientemente se han empezado a descubrir y difundir algunas de sus propiedades, como reservorio de grandes cantidades de fructo-oligosacárido de tipo inulina (50 a 60% de masa seca)^{2,3}.

Estos carbohidratos han despertado gran interés en la industria alimentaria como un edulcorante alternativo para la sacarosa o como un alimento funcional, ya que posee propiedades que son benéficas para la salud, por ejemplo estimulan el crecimiento de bacterias probióticas como las bifidobacterias en el intestino humano, además presentan bajo valor calórico (1 a 3 Kcal/g)³.

El yacón parece ser una excelente alternativa para producir fructo-oligosacáridos, ya que se puede extraer directamente de sus órganos subterráneos sin necesidad de cualquier proceso de transformación.

Los FOS se emplean en la elaboración de alimentos nutracéuticos o funcionales, es decir aquellos alimentos que independientemente de su valor nutritivo ejercen un efecto favorable sobre la salud del consumidor. El mercado para este tipo de producto está en expansión y el yacón podría tener posibilidades para posicionarse dentro de esta línea de productos. Pero ésta no es la única forma en la que se le puede encontrar un mercado importante. También se puede obtener una gama de productos procesados que permitirían generar valor agregado, tanto es así que al yacón fácilmente se pueden llegar a desarrollar y tener aceptación en el mercado, uno de estos alimentos procesados sería la harina de yacón.

En el Perú, la Universidad Nacional de Cajamarca junto con el Centro Internacional de la Papa ha desarrollado un trabajo en el cual le dan muchas utilidades a la raíz de yacón como por ejemplo pasas de yacón, hojuelas de yacón, jarabe de yacón, jarabe de yacón de alta concentración de fructosa entre otros. Por tal motivo el presente trabajo de investigación tuvo como objetivos

1. Optimizar las condiciones de elaboración de la harina de yacón
2. Evaluar el contenido de azúcares de la harina de yacón (*Smallanthus sonchifolius*).
3. Evaluar la influencia de la harina de yacón en el crecimiento de dos bacterias probióticas

I. GENERALIDADES

2.1 YACÓN

2.1.1 Yacón

El yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl) es una especie herbácea perteneciente a la Familia Astereaceae. Es originario de los valles andinos, región de clima templado y de altitud entre 2 000 a 3 400m que se extiende desde Colombia hasta el noreste de Argentina¹⁻⁵.

La raíz tuberosa ha recibido diferentes nombres en los idiomas andinos dominantes Aymara y Quechua, “*yakku*” y “*unison*” palabras que significan agua en cuanto *yakku* significa además acuoso o insípido. “Aricoma” y “aricumason” términos aymara que son utilizados en ciertas áreas de Bolivia. “*Llaqon*”, “*llacum*”, “*llacumao*” y “*yacumpi*” son palabras en quechua que designan al yacón. En el Ecuador “*jicama*”, “*chicama*”, “*shicama*”, “*jíquima*” o “*jiquimilla*” son los nombres populares del yacón. El término “*arboloco*” es utilizado en Colombia. EL yacón también recibe nombres en idiomas europeos provenientes por los cultivadores particulares: “*poire de terre*” (Francia), “*yacón strawbeeyb*” (Estados Unidos), “*leafcup*” y *yacón* (Inglaterra), “*polimnia*” (Italia). De manera general el término yacón es el más utilizado principalmente en países como Colombia, Perú, Argentina, países europeos Japón, Nueva Zelanda y Brasil ^{1,2}.

Es una planta de crecimiento rápido y se adapta fácilmente, sobreviviendo aun en los suelos pobres, en climas fríos y se ha comprobado el crecimiento a nivel del mar. Se cultiva ampliamente en huertos familiares de valles Quechuas y Yungas como cultivo marginal en chacras de otros productos como el maíz y la papa que lo utilizan para su propio consumo o comercializan en ferias rurales representando un importante alternativa nutricional y económica para la agricultura de subsistencia y ocupando el lugar de frutas y vegetales en la dieta de pequeñas comunidades ^{2, 3, 4,5}.

2.1.2 Taxonomía

El yacón es clasificado de la siguiente manera ^{1, 2, 3, 4,5}.

Súper reino	<i>Eucariontes</i>
Reino	<i>Plantae</i>
Sub-reino	<i>Embriofita</i>
Filo	<i>Tracofita</i>
Superclase	<i>Angiosperma</i>
Clase	<i>Dicotiledónea</i>
Orden	<i>Asterales</i>
Familia	<i>Asteraceae (Compositeae)</i>
Genero	<i>Smallanthus</i>
Especie	<i>sonchifolius</i>
Nombre vulgar	“Yacón” o “llacon”



Figura 1. Planta de yacón³

Fuente: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio

2.1.3 Descripción morfológica:

Es una planta herbácea que mide entre unos 2.5 metros de altura, es una planta rustica. A pesar de su origen andino, el yacón representa una especie con desenvolvimiento extremadamente adaptable en cuanto al clima, altitud y a los tipos de suelo, siendo cultivada en países de clima caliente como el Brasil. El cultivo del yacón es simple, se propaga vegetativamente, es decir, del tallo subterráneo se arranca uno de los brotes aéreos y jóvenes de 10 - 20 cm de largo, en cuya base se hallan formando raíces, al crecer el brote por su punto inferior se engruesa aumentando su tamaño de 5 a mas veces del original, saliendo de este numerosas raíces cilíndricas. Las raíces al comienzo son rectas, poco ramificadas y con picos agudos, luego comienzan a aumentar en largo y diámetro llegando a obtener finalmente una forma elipsoidal o esférica^{1,2}.

Las raíces son fusiformes y pueden variar en tamaño, forma y sabor, su cáscara varía de color canela a marrón, la pulpa puede ser de color blanco, amarillo, morado, naranja y algunas veces con puntos de color fucsia. Se ha determinado que el peso de la raíz oscila entre los 200 y 500 g. y el rendimiento por planta puede llegar a ser de 2 a 3 kg ^{1,3}.

La raíz tuberosa producida por la planta posee un sabor semejante al de las frutas como el de melón con pulpa levemente acaramelada, crocante y acuosa. Cuando son recientemente cosechadas las raíces tienden a presentar un sabor amiláceo motivo por el cual son expuestas a luz solar por muchos días de pos-cosecha a fin de incrementar el sabor dulce, técnica conocida como soleado. Las raíces son consumidas generalmente crudas una vez que la cáscara posee un sabor resinoso. Otras formas de consumir yacón comprenden cocción a vapor de agua o en fritura ^{1,2}. A diferencia de la mayoría de raíces y tubérculos que acumulan los carbohidratos en forma de almidón (polímeros de glucosa), el yacón almacena los carbohidratos en forma de inulina y/o oligofructanos (polímeros de fructosa) haciéndolo un alimento ideal para los diabéticos ^{2, 4,5}.

Las mejores condiciones para el desarrollo del yacón se encuentra entre el piso alto de la Región Yunga y el piso medio de la Región Quechua, según la clasificación de Pulgar Vidal en 1996, en el rango altitudinal de 1 100 a 2500 msnm. Sin embargo, el yacón ha demostrado ser un cultivo con bastante adaptación, pudiendo sembrarse en varios lugares de la costa y selva del Perú. En el norte peruano no soporta ambientes arriba de los 3 000 msnm. pero su cultivo se extiende hacia la ceja de selva de los departamentos de Cajamarca, Amazonas y San Martín ^{3, 4, 5}.

Preferentemente se cultiva en los valles interandinos meso térmicos, en los huertos familiares (huerto casero tropical) como planta de borde o en pequeñas parcelas asociado con otros cultivos. El cultivo desciende hasta la costa peruana sin mayor problema, como lo confirman las reintroducciones hechas en los últimos años en Lima, Trujillo y otros lugares de la costa y las evidencias arqueológicas y etnobotánicas del Perú prehispánico ^{3, 4, 5}.



Figura 2. Raíz del yacón.³

Fuente: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio

2.1.4 Distribución geográfica y zonas de cultivo

León (1964) y Cárdenas (1989) basados en sus propias observaciones y en los de exploradores antiguos como Bukasov, indican que el yacón se encuentra en estado cultivado y silvestre desde Venezuela y Colombia, hasta el norte de Argentina (Saita, Jujuy). En los últimos años no se tiene ninguna información de su cultivo en los dos primeros países pero si se ha hecho más evidente su distribución y variabilidad en Argentina, Bolivia, Ecuador, Perú. En Bolivia se cultiva en los departamentos de Tarija, Chuquisaca, Cochabamba y La Paz. En Ecuador se ha colectado germoplasma en las provincias de Carchi, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja. En el Perú confirmamos su cultivo en el área alto andina de 14 departamentos (de un total de 24 que tiene el país); Piura, Cajamarca, Amazonas, Lambayeque, La Libertad, San Martín, Ancash, Huánuco, Lima, Pasco, Apurímac, Arequipa, Cusco y Puno ^{3, 4, 5}.

2.1.5 Zonas de cultivo en el Perú

Los principales nichos de producción en el Perú se encuentran en: Amazonas (Utcubamba, Bongará, Chachapoyas); Ancash (Huaraz, Caraz, Yungay); Apurímac (Andahuaylas y Abancay); Arequipa (Arequipa); Ayacucho (Huamanga, Huanta); Cajamarca (Cajamarca, Contumazá, San Marcos, San Ignacio y Jaén); Cerro de Pasco (Oxapampa); Cusco (Urubamba, Cusco, Calca, Paucartambo, La Convención); Huánuco (Huánuco); Junín (Huancayo, Concepción, Jauja y Tarma); La Libertad (Otuzco, Santiago de Chuco, Sánchez Carrión); Lambayeque (Incahuasi); Lima (Pachacamac y Yauyos); Piura (Ayabaca y Huancabamba) y Puno (Sandía y Carabaya). De todos estos nichos de producción, los que más destacan son Cajamarca, Puno, Oxapampa, Huánuco, Ancash y Junín ^{3, 4, 5}.

2.1.6 El yacón fuera de los Andes

El yacón ya se siembra en muchos países fuera de los Andes. La ruta migratoria que siguió ha sido plenamente identificada. En la década de los 60 el

yacón salió por primera vez desde Ecuador hacia Nueva Zelanda, país en el que se adaptó bien y donde hoy se siembra en pequeña escala para comercializar sus raíces frescas. En 1985 fue llevado desde Nueva Zelanda al Japón, siendo éste último considerado como el centro de dispersión hacia otros países como Corea y Brasil lo que tal vez constituya el paso más importante de la migración del yacón por el mundo, pues fue en Japón donde se realizaron los primeros estudios científicos que permitieron determinar su composición química y sus efectos favorables sobre la salud ^{3, 4, 6, 7,8}.

Países tan diferentes como Checoslovaquia, China, Corea, Estados Unidos, Paraguay y Taiwán siembran actualmente yacón. Sin embargo, es en Japón donde se ha realizado la mayor cantidad de investigaciones científicas relacionadas al manejo agronómico, composición química, propiedades sobre la salud y desarrollo de productos procesados. En 1991, el yacón llegó de Japón a Brasil, donde también se han logrado ciertos avances en la investigación de estos temas ^{3, 4, 7,8}.

2.1.7 Composición química

El yacón es una de las raíces de reserva comestible con mayor contenido de agua. Según diversos autores entre el 83 y 90% del peso fresco de las raíces es agua. En términos generales los carbohidratos representan alrededor del 90% del peso seco de las raíces recién cosechadas, de los cuales entre 50 y 70% son fructooligosacáridos (FOS). El resto de carbohidratos lo conforman sacarosa, fructosa y glucosa. Sin embargo, la composición relativa de los diferentes azúcares varía significativamente debido a diferentes factores como el cultivo, la época de siembra y cosecha, tiempo y temperatura en pos cosecha, entre otros ^{3, 4,5}.

Las raíces de reserva acumulan cantidades importantes de potasio, compuestos polifenólicos derivados del ácido caféico, sustancias antioxidantes como ácido clorogénico y triptófano y varias fitoalexinas con actividad fungicida. El contenido de proteínas, lípidos, vitaminas y minerales es bastante bajo ^{3, 4,5}.

2.1.8 Composición Química del Yacón en tres estados de madurez³.

Tabla N°1 Composición Química del Yacón en tres estados de madurez³.

Características (%)	Primera cosecha (A)	Segunda cosecha (B)	Tercera cosecha (C)
Humedad	81.8	82.32	81.34
Grasa (b.s)	0.24	0.23	0.17
Proteína (b.s)	2.69	2.77	2.63
Carbohidratos (b.s)	89.95	91.96	94.15
Fibra bruta (b.s)	4.08	3.37	1.34
Cenizas (b.s)	3.04	2.65	1.81
Sólidos solubles (°BRIX)	14.2	15.4	16.2
pH	6.43	6.61	6.60
Acidez (exp. ácido cítrico)	0.293	0.297	0.30
Azúcares reductores (exp. glucosa b.s)	5.5	7.54	30.79

A: en floración, B: dos meses luego de la floración y C: cuatro meses luego de la floración. b.s: base seca.

Fuente: Fundamento para el aprovechamiento de un recurso promisorio.

2.1.9 Composición de Carbohidratos del Yacón en tres estados de Madurez^{3,6}.

Tabla N°2 Composición de Carbohidratos del Yacón en tres estados de Madurez

Carbohidratos (b.s) %	Primera cosecha (A)	Segunda cosecha (B)	Tercera cosecha (C)
Glucosa	0.72	1.89	3.41
Fructosa	5.60	8.25	26.93
Sacarosa	4.81	6.11	2.90
Oligofructanos	78.3	74.66	59.61

A: en floración, B: dos meses luego de la floración y C: cuatro meses luego de la floración. b.s: base seca

Fuente: Fundamento para el aprovechamiento de un recurso promisorio, contenido de fructanos en raíces tuberosas de yacón.

2.1.10 Composición de carbohidratos del yacón procedentes de diferentes zonas geográficas del Perú^{3, 4,5}.

Tabla N°3 Composición de carbohidratos del yacón procedentes de diferentes zonas geográficas del Perú^{3, 4,5}.

Carbohidratos (b.s) %	Tarma	Chachapoyas	Cuzco
Glucosa	3.47	3.92	3.31
Fructosa	24.76	30.74	25.57
Sacarosa	2.54	4.61	2.87
Oligofructanos	58.11	44.15	57.14

b.s: base seca

Fuente: Fundamento para el aprovechamiento de un recurso promisorio, influencia de las condiciones de proceso de secado por liofilización del yacón, influencia de las condiciones de almacenaje del yacón fresco.

2.1.11 Composición de minerales de yacón en tres estados de madurez^{3, 4,6}.

Tabla N°4 Composición de minerales de yacón en tres estados de madurez

Yacón (b.s)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (%)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)
Primera cosecha (A)	0.17	0.31	0.06	0.08	0.04	296	16	48
Segunda cosecha (B)	0.17	0.30	0.04	0.01	0.04	242	30	84
Tercera cosecha (C)	0.17	0.34	0.04	0.08	0.04	224	60	86

A: en floración, B: dos meses luego de la floración y C: cuatro meses luego de la floración. b.s: base seca

Fuente: Fundamento para el aprovechamiento de un recurso promisorio, influencia de las condiciones de proceso de secado por liofilización del yacón, contenido de fructanos en raíces tuberosas de yacón

2.2 OLIGOFRUCTOSACÁRIDOS

Los oligofructosacáridos, oligofructanos, glucofructosanos, inulinos, oligosacáridos resistentes o simplemente FOS, son carbohidratos principalmente compuestos por la fructosa y algunos escasos residuos de glucosa^{9, 10}.

Cuando un oligofructosacárido presenta de manera predominante o incluso exclusiva la unión β (2 \rightarrow 1) fructosil – fructosa (“enlace inulina”) recibe el nombre genérico de inulina (derivado de la planta) *Inulina helaniun*. Debido a que la configuración de las cadenas de inulina es primordialmente lineal, estas suelen ser de muy alta solubilidad. Ésta estructura está compuesta esencialmente de unidades 2-1- β -fructosa con un grado de polimerización de entre 3 y 70 monómeros. Se habla entonces de una serie de β -D-glucopiranosil o bien β -D-fructopiranosil^{9, 10, 11}.

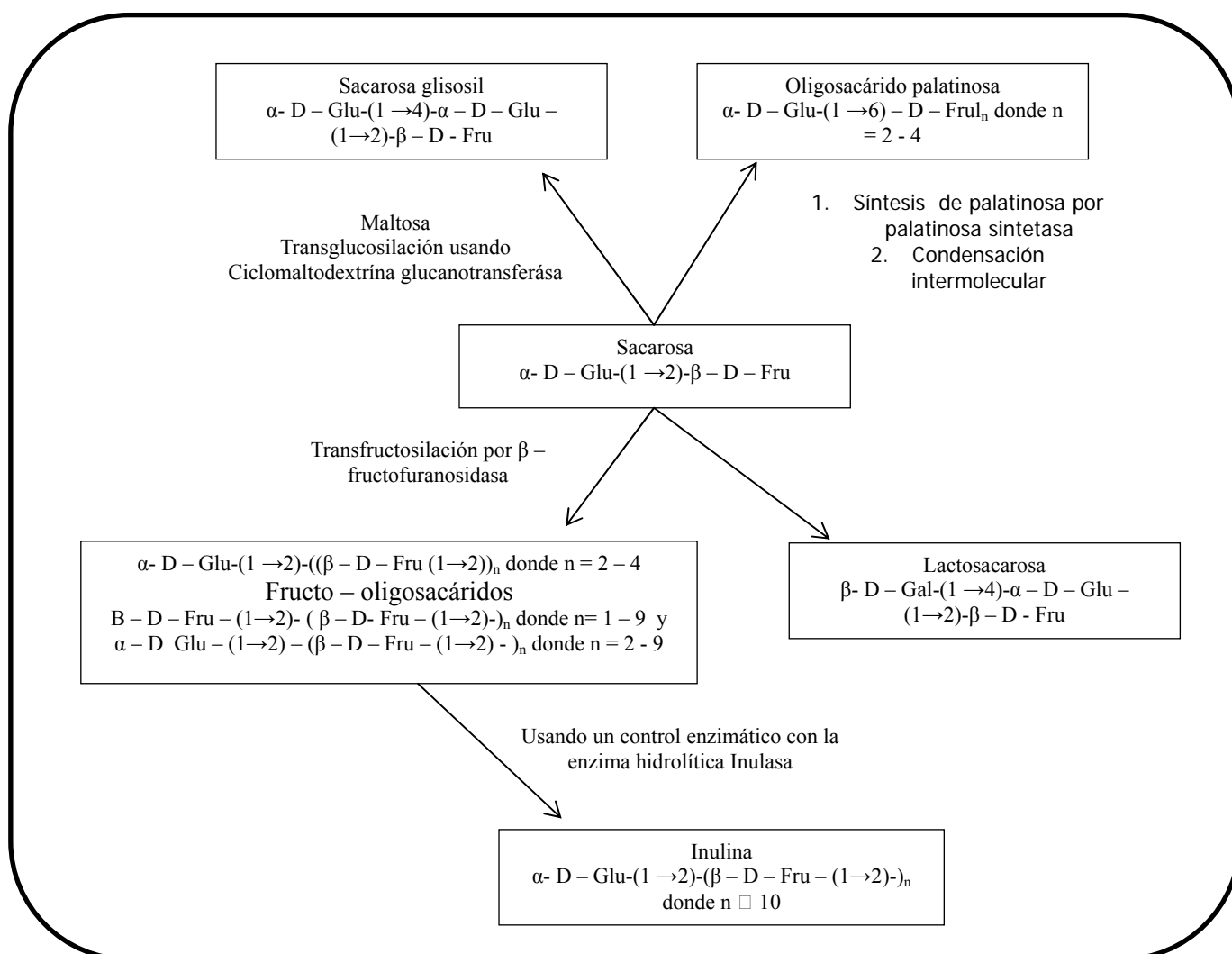


Figura 3. Traducción de fórmula estructural generalizada de la Inulina⁹

La inulina constituye una mixtura polidispersa muy heterogénea de carbohidratos y polímeros que tienen la misma estructura química básica. La inulina extraída de plantas por lo general contiene hasta un 10% de mono y disacáridos (principalmente sacarosa, fructosa) y una serie de oligosacáridos donde se incluyen los FOS denominados Fructanos, con un grado de polimerización de 10 o menos unidades y que constituyen un 30% del total. Estos últimos de hecho constituyen oligosacáridos más simples obtenidos a partir de la hidrólisis enzimática parcial de la inulina ^{9, 10, 11}.

Los FOS conocidos como fructanos, son compuestos cuya estructura se encuentra formada por unidades respectivas de disacáridos tales como la sacarosa la inulobiosa y la levanobiosa. La unión de grupos fructosilos a la sacarosa en diferentes posiciones genera cetosas, las cuales son el fundamento de todos los fructanos naturales. Los fructanos son fructosilpolímeros que consisten en cadenas lineales de D-fructosa (aunque se pueden observar diferentes grados de ramificación según la complejidad, unidad a la fructosa por un enlace β -(2→1) y que usualmente tienen una molécula de D-glucosa terminal unida a una fructosa por un enlace α -(2→1).

La naturaleza de estos enlaces tienen importantes implicaciones bioquímica que se asocian a una marcada indigestibilidad de los mismos cuando son consumidos por seres humanos. Si bien los fructanos de origen natural se presentan en la forma de simples polímeros de fructosa que en algunas ocasiones presentan unidades terminales de glucosa en el caso de las moléculas sintéticas de fructanos siempre existe una glucosa terminal ^{12, 13, 16}.

La definición de los fructanos no está limitada por el peso molecular, pues no excluye a aquellas moléculas que tienen un grado de polimerización menor a 10 monómeros, incluyéndose en esta definición al dímero inulobiosa. Generalmente en la naturaleza el grado de polimerización varía entre 2 y 70 unidades. En promedio no obstante la cifra más común de polimerización es de 10 unidades ^{9, 16}.

Las moléculas de fructanos también pueden presentar monómeros de glucosa en su estructura; en estos casos, los fructanos pueden ser considerados complejos resultantes de la combinación y polimerización de tres azúcares: 1-cetosa (1-cetotriosa), nitosa (1,1-cetotetrosa) y la 1- β -fructofuranosilnitosa. Existe también una cuarta estructura una pentafructano, la cual no ha sido aun caracterizada ^{9, 16}.

La estructura química de los fructanos es tal que los hace solubles en agua, lo cual tiene importantes implicaciones biológicas a nivel de la dinámica celular de las plantas. Son almacenados preferiblemente en vacuolas donde es posible que posea otras funciones para la planta como la tolerancia al frío y a las sequías ⁹.

En muchas plantas monocotiledóneas existe un grupo de fructanos que son también lineales, pero presentan uniones entre las unidades de fructosa que son predominantemente del tipo β (2 \rightarrow 6) o incluso β (2 \rightarrow 1) en los casos mixto. Estos tipos de fructanos reciben el nombre de lévianos ⁹. El nombre les viene de la rotación “levo” que tienen los hidrolizados resultantes. Los lévianos de las plantas superiores suelen ser polisacáridos de cadenas relativamente cortas. No obstante que puedan existir residuos de glucosa, los lévianos suelen ser primordialmente polímeros de fructosa ⁹.

Un tipo adicional de fructanos presenta las características de contar con ambos tipos de enlace, es decir β (2 \rightarrow 6) y β (2 \rightarrow 1), presentando en consecuencia una estructura ramificada. Estos fructanos son comunes en pastos y cereales, por lo cual se denominan graminianos. No obstante que pueden existir residuos de glucosa, los lévianos suelen ser primordialmente polímeros de fructosa ^{9,16}.

2.2.1 Bioquímica de los oligofructanos.

2.2.1.1 Biosíntesis y degradación

La sacarosa es el precursor de los fructanos sintetizados en las plantas durante la biosíntesis. La sacarosa se almacena en su forma natural en la planta hasta que las concentraciones son altas, siendo entonces que se inicia la biosíntesis

de los fructanos que suelen acumularse en las hojas y vacuolas. La síntesis y acumulación de los oligofructanos se cree es extracloroplástico y ocurre en las vacuolas ^{9,16}.

La biosíntesis de fructanos se rige por mecanismos muy particulares y complejos según sea la fuente vegetal, microbiana o fúngica, aunque por lo general consiste en una transfructosilación, es decir una transferencia de residuos terminales de fructosilos hacia una sacarosa ^{10,16}.

Las enzimas causantes de la elongación de las cadenas de oligofructosacáridos, ya sean de origen vegetal o microbiano son denominados por algunos autores como β -D-fructofuranosidasas mientras otros prefieren denominarlas fructosiltransferasas ^{10,11}.

Muchas plantas como la achicoria (*Cichorium intybus*) y la alcachofa (*Cynara scolymus*) tienen enzimas complejas que se rigen por una simple cinética de Michaelis Menten y cuya actividad depende de la concentración de sustrato y de enzima 1-fructosiltransferasa (1-SST), β -fructan-1-fructosiltransferasa (1-FFT) 6G-fructosiltransferasa (6G-FFT) y 6-fructosiltransferasa (6-SFT) ^{10, 11,16}.

Al principio la 1-SST convierte la sacarosa en glucosa y un oligofructósido polimerizando luego hasta el tercer monómero de fructosa dejando que la 1-FFT forme a partir de allí los polímeros de mayor peso molecular. El tamaño de los polímeros generados depende entonces principalmente de la actividad enzimática de la 1-FFT.

El modelo postula que la 1-SST cataliza la síntesis del trisacárido 1-cetosa a partir de dos moléculas de sacarosa al transferir un residuo fructosilo de una molécula de sacarosa a otra liberándose lógicamente glucosa. A continuación la 1-FFT transfiere de modo reversible un fructosilo de un fructano con un grado de polimerización mayor o igual a tres a otro fructano generando así inulina. Esto produce una mezcla muy heterogénea de fructanos características de los vegetales y que no es vista en los lévianos microbianos, a partir de la 1-cetosa y sacarosa la enzima 6G-FFT puede producir neocetosa y la enzima 6-SFT

puede producir bifurcosa, producto que puede ser enlogado por la 1-FFT en la forma antes descrita para generar oligofructanos ramificados. Si el único sustrato disponible es la sacarosa la enzima 6-SFT puede generar lévianos a partir de ella ^{9, 10, 11, 16,17}.

Los fructanos pueden ser degradados por igual diversidad de enzimas que las que involucran su síntesis. La ruptura de las inulinas por lo general se lleva a cabo por medio de una hidrólisis ejecutada por fructanos exo-hidrolasas, exoinulasas y exolevanasas como la 2.1 β -D-fructanohidrolasas y la β -D-fructofuranosilfructohidrolasa por ejemplo que rompe los enlaces β (2 \rightarrow 1) liberando fructosa y polisacáridos de cadena corta. Generalmente estas enzimas tienen peso moleculares que van de 54 000 a 64 000. Un rango óptimo de temperatura que va de 45°C a 55°C y un ámbito de pH que varía desde 5.3 a la neutralidad ^{10,11}.

Aunque las enzimas relacionadas con la degradación de los fructanos se encuentran ampliamente distribuidas en plantas y organismos, sus mecanismos de acción permanecen aun sin ser identificados plenamente ^{11,16}.

Al ser consumidos, los fructanos no son hidrolizados en el tracto digestivo dada la ausencia tanto de exoinulasa como exolevanasas sufriendo posteriormente por ello fermentación en el colon. Químicamente los fructanos pueden hidrolizarse por calentamiento en una disolución de ácido oxálico ^{15,17}.

2.2.1.2 Propiedades fisicoquímicas básicas

Los oligofructanos presentan una serie de características químicas muy particulares. Como se expuso con anterioridad los pesos moleculares de los fructanos son muy variables según la fuente, pero en términos generales oscilan en el intervalo 1 000 y 4 500Da ^{9, 10, 11,16}.

Los fructanos y principalmente la inulina tienen en su estructura enlaces del tipo β -(2 \rightarrow 1) responsables de que los fructanos no sean digestibles como lo sería cualquier carbohidrato típico, lo que a su vez tiene como consecuencia

que tenga un bajo valor calórico y una funcionalidad nutricional como fibra dietética^{16,17}.

A diferencia del almidón que es mayoritariamente insoluble, los fructanos son totalmente solubles. La inulina por ejemplo presenta una solubilidad en agua igual a 60g/L a una temperatura de 10°C y de 300g/L a 90°C. Además la inulina en su estado sólido puro suele presentar formas cristalinas, las cuales suelen ser higroscópicas y difíciles de mantener en forma liofilizada a no ser que se empleen atmósferas modificadas. La solubilidad es también apreciable en etanol al 80% especialmente a una elevada temperatura de alrededor 80°C. La capacidad de ser hidrosolubles otorga a los fructanos propiedades humectantes cuando se emplean como aditivos en la industria de alimentos, así como la capacidad de formar geles cremosos cuando se calientan en medios acuosos. Las viscosidades de las disoluciones de fructanos son generalmente más altas que las de los demás carbohidratos a la misma concentración y suelen ser de mayor estabilidad térmica^{9, 16}.

Los fructanos poseen un sabor neutral y ligeramente dulce. Así por ejemplo para los fructanos de mas bajo peso molecular como los detallados pueden tener dulzones relativos del 10% de la sacarosa así como rotaciones ópticas específicas de +28.5. Los fructanos suelen ser muy estables a los rangos de pH encontrados en la mayoría de los alimentos (pH entre cuatro y siete) así como estables a la refrigeración^{9,11}.

Los oligofructanos son incoloros e inodoros y son estables hasta temperaturas cercanas a los 140°C, algunos pueden tener capacidad reductoras.

2.2.2 Fuentes de los oligofructanos

Los oligofructanos y más explícitamente las inulinas son compuestos orgánicos fundamentalmente de origen vegetal encontrados comúnmente en nuestra dieta desde tiempos inmemorables aunque como se mencionó con anterioridad también se conocen inulinas muy específicas de origen bacteriano y hasta fúngico^{9, 11,17}.

2.2.2.1 Microorganismos y Hongos

En el caso de las bacterias los fructanos son elaborados como polisacáridos extracelulares y son siempre lévianos con pesos moleculares que oscilan entre 10^7 y 5×10^7 Da. y con niveles de polimerización mayores en dos o tres grados de magnitud en comparación con los fructanos vegetales ⁹.

En el caso de los fructanos de origen fúngico estos alcanzan bajos grados de polimerización que van de dos o cuatro unidades de monómeros. Artificialmente los fructanos pueden ser sintetizados a partir de la sacarosa gracias a la acción de la enzima fructofuranosidasa que se extrae de los hongos ⁹. Microorganismos como *Aureobasidium sp*, *Candida sp*, *Penicillium sp*, *Fusarium sp*, *Aspergillus niger*, y ciertos bacilos que contengan la enzima levanosucrasa, son reconocidos por presentar una alta capacidad de formar fructanos gracias a la alta actividad de la enzima β -fructofuranosidasa ⁹.

2.2.2.2 Vegetales

Hasta 36 000 especies diferentes de plantas contienen entre sus carbohidratos de reserva a diversos tipos de oligofructanos. En algunas de estas plantas el contenido de fructanos puede llegar a constituir hasta 24% de la masa cruda ⁹.

Las principales familias de plantas que incluyen a los fructanos en su composición son la Liliaceae, Amarylidaceae, Gramineae, Poaceae, Solanaceae y Compositae ⁹.

Es común encontrar oligofructanos en alimentos tales como el trigo que de hecho es la principal fuente nutricional de los mismos en los Estados Unidos. Las gramíneas en general pueden tener contenidos de oligofructanos que oscilan entre 0.38g/100g y 0.96g/100g ⁹.

No obstante si de cantidades se trata las principales fuentes de oligofructanos son las achicoria (*Cichorium intybus*), alcachofa (*Cynara scolymus*), alcachofa de Jerusalén conocida como topinambur (*Helianthus tuberosus*), alcachofa globo (*Cynara cardunculus*), yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y dalia (*Dahlia pinnata* Cav.)⁹.

La inulina proveniente de la achicoria es la única que brinda la mejor opción en cuanto a cantidad y calidad como para pensar en la industrialización del producto. Generalmente en estas plantas los fructanos producidos son de muy bajo peso molecular y bajo grado de polimerización^{9,16}.

El yacón es un tubérculo originario de la región andina suramericana cuyas raíces contienen cantidades consideradas de oligofructanos. Es una hierba perenne capaz de crecer hasta tres metro de alto y que posee un sistema de raíces tuberculosas que llegan a alcanzar una longitud de 10cm a 25cm de diámetro. Estas raíces acumulan una gran diversidad de azúcares variables significativamente en cantidad según el ecótipo y entre los que se encuentran la fructosa, glucosa, sacarosa, trazas de almidón oligosacáridos varios. Estos fructanos presentan un grado de polimerización de 3 a 10 unidades y representan un 67% de la materia seca total de la raíz⁹.

En los países andinos es consumido incluso en su forma cruda después de secarlos al sol y como si fuese una fruta dado su sabor dulce y su textura crujiente comparable con la pera. No obstante se estima que la cantidad de fructanos se ve significativamente disminuidas por el tratamiento solar dada su conversión a fructosa por lo cual es más recomendable el uso de otras técnicas alternativas de secado o de consumo^{9, 14,15}.

2.2.3 Aspectos nutricionales y funcionales de los oligofructanos

2.2.3.1 Fermentación funcionalidad como fibra dietética y efecto prebiótico.

Tanto la inulina que por lo general contiene pequeñas traza de sales y minerales ($\leq 0.2\%$), como los fructanos en general se encuentran ampliamente presentes en la dieta de mayoría de la población mundial al punto que la ingesta suele ser de varios gramos diarios. Generalmente se recomienda al menos una ingesta de 8g de oligofructanos en la dieta de modo que múltiples funcionalidades nutricionales sean manifiestas en los organismos y no se presenten problemas de intolerancia ^{11,16}.

El valor calórico de la inulina tiende a ubicarse en promedio en 1.6 – 2.71 kcal/g especialmente por la metabolización de los ácidos grasos de cadenas corta que se producen a partir de ellos durante el proceso fermentativo que sufren los fructanos en el colon. El índice glicémico de la inulina que se estima es de cero ⁹.

El colon humano constituye un complejo ecosistema que comprende hasta 50 especies diferentes de bacterias que constituyen una flora mayoritariamente anaeróbica estricta acompañada por cantidades menores de flora facultativa, cuya actividad y cantidad se ve afectada por la fisiología gastrointestinal y por los sustratos de fermentación con los que estas dispongan.

Usualmente las bacterias del tracto inicial del colon tienen más nutrientes que aquellas que crecen al final por lo cual el pH del inicio del tracto suele ser más bajo que el del final, dada la mayor producción de ácidos orgánicos derivados de la fermentación. Esto hace pensar que la fermentación se da primordialmente en el colon inicial o cercano. Los oligofructosacáridos pueden clasificarse como carbohidratos altamente fermentables ^{9,16}.

Los principales sustratos fermentativos para el crecimiento bacteriano antes descrito son los carbohidratos. De éstos solo entre 10 a 60g por día logran llegar al colon siendo la gran mayoría de estos fructanos (2 a 8g por día). Los fructanos dada su composición química (enlaces β (2 \rightarrow 1)) no son degradados a nivel de estómago ni de intestino delgado siendo resistente a la acción de las enzimas del intestino delgado y de las pancreáticas. Las bacterias Gram negativas del colon logran sintetizar toda una serie de enzimas del intestino sacarolíticas que si pueden metabolizar a los oligofructosacáridos los cuales son fermentados anaeróbicamente especialmente si su grado de subdivisión es bajo. La cinética de fermentación está ligada entonces al grado de polimerización ya que aquellas moléculas de más de 10 monómeros son fermentadas en el doble tiempo que aquellas de menor tamaño ¹⁶.

La fermentación trae como consecuencia una disminución en el pH, debido a los productos generados (ácidos carboxílicos, lactato y acetato). La disminución en el pH provocada al fermentarse los fructanos presentes en los alimentos y darse una intensa generación de ácidos carboxílicos de cadena corta da como resultado más alta tasa de mortalidad de patógenos intestinales sensibles a la acidificación disminuyendo paralelamente sus posibilidades de colonización y translocación no obstante una sobre acidificación debida a altas concentraciones de ácidos orgánicos podría verse vinculada con una inducción de lesiones a la mucosa intestinal comprometiendo su función de barrera ¹⁷.

El proceso fermentativo es efectuado principalmente por bacterias lácticas y bifidobacterias a diferencia de los clostridia, bacteroides y coliformes que no pueden metabolizar en esta forma a los fructanos especialmente si son de cadena corta.

Estudios aún por profundizar sugieren una mayor eficiencia en la fermentación de las *Bifidobacterium* por sobre las demás bacterias lácticas. Las bifidobacterias poseen β -fructofuranosidasa capaz de hidrolizar los enlaces β (2 \rightarrow 1) y α (1 \rightarrow 2) que los permite aprovechar

directamente los fructanos lo que indica una alta especificidad de las bifidobacterias por este sustrato. De hecho se ha determinado que las *Bifidobacterium* prefieren a los fructanos por sobre la glucosa como sustratos fermentativos ^{12,13}.

Se ha estimado que una ingesta diaria de 15g hace por definición que las bacterias lácticas y *Bifidobacterium* se transformen en la flora dominante del colon no obstante no es del todo conocido cuales cepas de las bacterias lácticas y *Bifidobacterium* son los responsables de la metabolización de fructanos en sus diversas etapas ¹².

Las bifidobacterias constituyen hasta un 25% de la flora del colon, durante su competencia al fermentar los fructanos contribuyen a la disminución y hasta anulación de cepas patogénicas que son sensibles al medio ácido entre las que se encuentran *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sp.* y *Clostridium difficile*. La prevención y reducción de los patógenos se da debido también a la producción de bacteriocinas y otros agentes antimicrobianos, la competencia por sitio de adhesión en las mucosas, la competencia por nutrientes y la producción de inhibidores como lactato y acetato. Lo anterior es especialmente importante en grupos de riesgo como inmunodeprimidos o ancianos; de los cuales, es este último grupo donde las poblaciones de *Bifidobacterium* suelen ser más reducidas ¹².

Los productos de la fermentación están constituidos por un 55% de ácidos grasos volátiles de cadena corta (ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico), 10% de gases (CO₂, CH₄, H₂) y un 35% de biomasa bacteriana para un valor energético total de 1.0 a 1.5 Kcal/gr. la mayor parte de los ácidos grasos producidos son ampliamente absorbidos en la sangre desde donde son distribuidos al hígado y a los tejidos periféricos induciendo cambios en el metabolismo de las grasas y de la glucosa. Estudios recientes indican que algunas de estas moléculas también cumplen papeles importantes como moduladores de vías metabólicas

primordiales. El butirato producido en la fermentación está asociado por ejemplo con la producción de mucinas, que son complejos de glicoproteínas que componen el gel que recubre el epitelio gastrointestinal. El proceso fermentativo y sus productos pueden ser relacionados entonces con un efecto beneficioso importante.^{12, 13}.

Los alimentos funcionales también llamados nutraceuticos, son todos aquellos que producen efectos beneficiosos a la salud, más allá de un simple aspecto nutricional, que son superiores a los alimentos tradicionales. El efecto positivo puede manifestarse tanto en el mantenimiento del estado de salud como en la reducción de riesgo de padecer una enfermedad^{12, 13}.

Uno de los componentes funcionales de los alimentos es la fibra dietética la cual según acuerdos internacionales pueden definirse como: “aquellas de las plantas o bien carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y a la absorción en el intestino delgado humano y que experimentan una fermentación parcial o total en el intestino grueso; incluyéndose en esta definición polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas”⁶.

Desde un punto de vista analítico y fisiológico sobre todo tomando en cuenta lo expuesto sobre la bioquímica y fermentación de los fructanos tanto la inulina como los oligofructanos deben ser clasificados como fibra dietética^{9, 6}. Ya se mencionó como los oligofructosacáridos pueden favorecer selectivamente el crecimiento de las bacterias lácticas y bifidobacterium. Esta capacidad de estimular el crecimiento en el colon de bacterias específicas consideradas beneficiosas como inhibir y hasta anular el crecimiento de bacterias patógenas se conoce como efecto prebiótico¹⁸.

De todos los polisacáridos y oligosacáridos no digeribles solamente los oligofructosacáridos son actualmente los únicos reconocidos y utilizados en alimentos como prebióticos al cumplir con todos los criterios de

clasificación y seguridad alimentaria. De hecho no solo son los más estudiados sino además los más utilizados y los que presentan un mejor efecto general ⁹.

2.2.3.2 Funcionalidades varias

Las propiedades fisicoquímicas y biológicas de los oligofructanos son tales que tienen muchas implicaciones que trascienden su naturaleza de fibra dietética y que son de importancia en la salud humana ^{9,10}.

Los oligofructanos balancean las actividades metabólicas como es el caso de la homeostasis lipídica, fortalecen las funciones inmunes del organismo así como mejoran la biodisponibilidad de nutrientes al ser fermentados. El aumento de las defensas se debe a la capacidades inmuno - modulatorias de las bacterias lácticas que crecen a expensas de los fructanos es decir está implícito en la acción simbiótica. Esto es particularmente evidente en infantes lactantes ⁹.

Debido a su proceso fermentativo, los oligofructanos pueden afectar el epitelio intestinal favoreciendo el desarrollo de la mucosa y aumentando la resistencia a enfermedades intestinales por un mecanismo de barrera. Por esta misma razón el consumo de oligofructanos favorece que no aparezcan lesiones intestinales ulcerativas, siendo el tratamiento de corto tiempo basado en la ingesta de fructooligosacáridos y bifidobacterias una de las mejores terapias para la inflamación asociada a la colitis ulcerativa activa. ⁹

También, se le atribuye a los oligofructanos la capacidad de evitar el estreñimiento al permitir una mejor formación del bolo fecal y favorecer la movilidad intestinal. El consumo diario de 3 a 10g de fructanos genera un efecto anticonstipante en periodos tan cortos como una semana, lo cual es atribuible a un incremento en la producción de ácidos grasos de cadena corta, y a un aumento en la peristalsis producido por la alta población de bifidobacterias. El índice de formación de bolo fecal. Es

decir el aumento en el peso fresco en g del bolo fecal en función de los gramos de fructanos consumidos, es muy similar entre los oligofructanos y otras fibras fácilmente fermentables como las pectinas y las gomas las cuales poseen una tasa de fermentación de más o menos 2 – 15g/día .

El aumento de la masa fecal se debe también a que esta se suma las masas bacterianas generadas en la intensa fermentación y el aumento de la capacidad de retención de agua otorgada por los carbohidratos no fermentados. Las deposiciones se vuelven no solo más consistentes si no más frecuentes. Además la deposiciones son más suaves en consistencia favoreciendo una defecación menos forzosa lo que genera menos estrés a nivel del colon y el ano observando que dosis de entre 20 – 40 g/día de inulina potencian un efecto laxante ¹⁶ .

El consumo de oligofructanos que como se expuso son de muy bajo nivel calórico ayuda a la prevención de: arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares o hipertrigliceridemia las cuales están asociadas a las dietas hipercalóricas. Paralelamente al disminuir la ingesta calórica disminuye el riesgo de obesidad y de padecer diabetes tipo II. La ingesta de estos carbohidratos puede mejorar la intolerancia a la lactosa. Además previenen la esteatitis en el hígado especialmente en personas obesas. La inulina y la oligofructosa son empleadas ampliamente como edulcorantes para diabéticos, aunque no es conocido ningún efecto sobre los niveles de glucosa en sangre ni en la secreción de insulina o glucagón, no obstante si se han reportado mejorías en la condición general de diabéticos cuando se emplean dosis altas de alrededor de 40 a 100g/día ⁹ .

Existe una importante disminución en el riesgo de padecer cáncer de colon, dado que muchas bacterias nocivas cuyos metabolitos aceleran la aparición de lesiones ulcerosas se encuentran inhibidas por la acción simbiótica de los oligofructosacáridos y bifidobacterias ⁹ . Esto está demostrado por estudios epidemiológicos que han encontrado que en poblaciones urbanas con mayor incidencia en cáncer de colon, se ha

logrado generar una reducción importante de la incidencia de este tipo de cáncer si se implantan dietas suplementadas con oligofructosacáridos. En estas mismas poblaciones al identificar la flora se detectó una gran incidencia de bacteroides los cuales al mejorar la dieta fructanos desaparecen en gran medida dado el efecto inhibitorio resultante. Se presume además, que el butirato generado durante la fermentación favorece la proliferación de células diferenciadas y potencialmente cancerígenas⁹.

El consumo de los oligofructanos ha demostrado mejorar la absorción de minerales tales como el calcio, el magnesio, el zinc, el hierro y el cobre. La absorción de minerales generalmente se da en forma mayoritaria en el intestino delgado aunque el intestino grueso puede también representar un sitio de absorción gracias a la ayuda de los ácidos grasos de cadena corta derivados de la fermentación. Se especula que la microflora presente en el colon al hacer decrecer el pH del lumen promueve la reducción química de los minerales, facilitando así su absorción; esto estimula a la vez la proliferación de células epiteliales con una mayor expresión de proteínas asociadas al transporte de minerales, con un consiguiente aumento no solo de la superficie de absorción sino también de la eficiencia de las mismas. El efecto es notorio para ingestas de entre 8 – 15g/día de fructanos generándose en el caso del calcio aumento en la absorción de hasta un 19 -26 % pudiendo llegar hasta un 55% para ingestas de 40g diarios. El efecto pareciera ser acentuado en jóvenes y adolescentes en caso de calcio y en infantes cuando se emplean dosis de 0.75 – 1.0g/día de inulina para el caso del hierro, magnesio y zinc. La absorción del calcio ha mostrado ser muy importante en la salud ósea; pues se observa un marcado incremento del contenido de este material en el hueso y por ende una prevención de enfermedades, como la osteoporosis. Se asume que la presencia de cantidades elevadas de ácidos grasos de cadena corta proveniente de la fermentación facilita la absorción de los minerales citados anteriormente a través de su cotransporte activo/pasivo con agua y sodio a través del epitelio intestinal y gracias a la condiciones del pH

bajo predominante. Además la inulina al atraer agua al lumen mejora la solubilidad y grado de ionización de estos minerales, especialmente en condiciones de acidificación favoreciendo su disponibilidad y posterior absorción por el epitelio intestinal^{9, 16}.

2.3 PROBIÓTICOS

2.3.1 Definición

Los prebióticos no deben ser confundidos con los probióticos. Estos últimos son microorganismo vivos no patogénicos que son habitantes usuales del tracto digestivo los cuales en su estado natural habitan en el ser humano, y que al ser agregados como suplemento en la dieta y ser consumidos en cantidades suficientes favorecen el desarrollo de una flora microbiana en el intestino, beneficiando a la salud y previniendo las enfermedades de su hospedero.

Los alimentos que contienen microorganismos probióticos de rango diario son: fórmulas para infantes, alimentos para bebés, productos basados en jugo de frutas, productos en base a los cereales, productos farmacéuticos y productos en base a leche fermentada^{30,31}.

1. Productos de leche fermentada: cada tipo de yogurt contiene microorganismos vivos de *Lactobacillus delrueckii*, sub-especie *bulgaricus*, *Str. thermophilus* y *Lb. acidophilus*^{30,31}.
2. Suplementos alimenticios y bebidas contienen uno a mas microorganismos probióticos como: *Lb. acidophilus*, *Lb. reuteri*, *Lb. casei* y especies de *Bifidobacterium*^{30,31}.
3. Productos farmacéuticos en forma de tabletas, cápsulas, y productos granulados. El beneficio de las bacterias probióticas incluye protección contra cepas patógenas entéricas, desintoxicación y mejora la forma del metabolismo de las enzimas de algunos nutrientes ejemplos lactasa (hidrolisis de la lactosa) y remueve

algunos metabolitos o componentes de alimentos perjudiciales para la salud, estimulación del sistema inmune y mejora la actividad peristáltica del intestino^{30, 31}.

Selección y criterio para las bacterias probióticas: la base teórica para la selección de los microorganismos probióticos incluyendo los aspectos de cuidado y funcionalidad (supervivencia, colonización, producción antimicrobiana, estimulación del sistema inmune, actividad desintoxicación y prevención de patógenos) y aspectos tecnológicos (crecimiento en leche, otras bases de alimentos, propiedades sensoriales, estabilidad, resistencia a fagos y viabilidad).

Precisamente las bacterias lácticas y las bifidobacterias son ejemplo de probióticos donde las primeras suelen frecuentar el intestino delgado y las otras el intestino grueso. A diferencia de las bifidobacterias que presentan poblaciones muy estables, los *Lactobacillus* suelen ser más fluctuantes. Los principales probióticos son las cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. reuteri*, *Bifidobacterium bifidum* y *B. longum*. También la levadura *Sacharomices. boulardii* presenta actividad probiótica¹⁸.

2.3.1.1 Lactobacillus

Lactobacillus es un género Gram positivo, no forma esporas, catalasa negativo, anaerobio facultativo o microaerófilo, este género comúnmente produce ácido láctico, el cual es su mayor metabolito^{30,31}.

El género *Lactobacillus* es muy difundido en la naturaleza encontrándose en sistema digestivo de humanos y otros animales. Actualmente hay más de 125 especies de *Lactobacillus* todas identificadas. Algunas especies de *Lactobacillus* ayudan en la producción de “alimentos fermentados” como son: encurtidos, queso, yogurt. Este género también es usado en mejorar la estabilidad, almacenamiento de los alimentos y mejorar el sabor, pero la atención

actual está es su efecto benéfico en la salud de la persona humana^{30,31}.

2.3.1.2 Bifidobacterium

La familia *Bifidobacterium* consiste de bastones pleomorficos que se encuentran solos o en cadenas pluricelulares o grupos. La familia *Bifidobacterium* contiene el género tipo *Bifidobacterium* con 32 especies (especies tipo *Bifidobacterium bifidum*) tan bien al género *Gardnerella* con *Gardnerella vaginalis* tan solo una especie^{30, 31}.

Estos microorganismos no forman cápsulas, ni esporas, no son móviles y no son filamentosos. Ellos son Gram positivo a excepción de *Gardnerella vaginalis* el cual es un Gram variable. Estos son anaeróbicos (alguna especie de *Bifidobacterium* pueden tolerar O₂ solo en presencia de CO₂) o ser anaerobio facultativo (*Gardnerella*). Ellos son negativos para lo siguiente: indol, hidrolisis de gelatina, catalasa (excepción de *B. indicum* y *B. asteroides* durante su crecimiento en presencia de aire) y oxidasa. El crecimiento óptimo es a temperatura de 35 – 39°C. Ellos tienen un metabolismo tipo fermentativo. Ellos producen ácido pero no gas de una variedad de carbohidratos, ellos están en el sistema digestivo humano y animal. Ellos no son patógenos a excepción de bifidobacteria aislado de caries dentales (probablemente una patología de caries problemática)^{30,31}.

2.3.2 Aplicaciones

En muchos alimentos incluyen tanto los prebióticos y probióticos integrando lo que se denomina un simbiótico. Por medio del simbiótico se facilita la implantación tanto del sustrato como del microorganismo en el sistema gastrointestinal del huésped. Aunque el uso de simbiótico aun está en fase de estudio es posible esperar que se dé un efecto sinérgico entre prebióticos y probióticos, experimentos del laboratorio han demostrado que cuando se emplean simbiótico, las bacterias de género *Bifidobacterium* mejoran

su tasa de crecimiento a razón de 1.4 a 1.6 log UFC/g de heces. El efecto es un incremento de la flora intestinal entre 54.8% a 73.4% cuando se emplean fórmulas prebióticas para infantes basadas en fructooligosacáridos. Los simbióticos son empleados sobre todo en Europa y Japón en industrias lácteas, especialmente yogurt y bebidas derivadas. El efecto simbiótico se potencia especialmente al usarse una alta concentración del sustrato y un pH bajo ^{9,16}.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Lugar de Ejecución

El presente trabajo de investigación se desarrolló en la Facultad de Farmacia y Bioquímica en los laboratorios de Farmacognosia y en el Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo”.

4.2 Materia Prima

La recolección de las muestras de yacón se realizó en la localidad de Jaípe, a una altitud 2100 msnm con coordenadas de 06°09 07”S o 078° 21 05”W del Distrito de Lonya Grande de la Provincia de Utcubamba del Departamento de Amazonas. La muestra ha sido certificada por el biólogo José R. Campos de la Cruz (Anexo 1).

Las muestras fueron almacenadas a 5°C para sus respectivos análisis y procedimiento de elaboración de la harina.

4.3 Materiales y Equipos

4.3.1 Materiales

- Micro pipetas de 100 - 1000uL, 1 - 10mL (Brand)
- Beakers de 100, 250, 1000mL (Pyrex)
- Fiolas de 25, 100 y 200mL (Pyrex)
- Mortero
- Pelador mecánico de acero inoxidable
- Cuchillo de acero inoxidable
- Regla de 30cm
- Vernier
- Tocuyo o filtro de tela
- Placas Petri grandes 150x25mm
- Bureta de 50 mL(Pyrex)

- Tubos de ensayo 13x 100cm (Pyrex)
- Frascos de vidrio con tapa rosca 250 y 500mL (Boeco)
- Jarras de anaerobiosis Merck
- Placas Petri 100x15mm
- Tips de 1mL

4.3.2 Equipos

- Congeladora
- Espectrofotómetro marca Merck
- Balanza analítica de 0.0001g de sensibilidad Marca OHAUS
- Equipo de baño de agua regulado a 60°C
- Licuadora de dos velocidades.
- Molino de cuchillas
- Cocinilla eléctrica
- Selladora de bolsas
- Balanza de 100 a 4 500g Marca Ohaus
- Refractómetro
- Soxhlet

4.3.3 Reactivos

- a) Ácido ascórbico grado alimentario (Fluker)
- b) Ácido sulfúrico 96% (Merck)
- c) Antrona (Merck)
- d) Fenol (Merck)
- e) Estándares de azúcar (d-glucosa, d-fructosa, sacarosa) (Merck)
- f) Hidróxido de sodio (Merck)

- g) Ácido dinitrosalicílico (DNS) (Merck)
- h) Agar MRS (Oxoid)
- i) Agar MRS reforzado (cloruro de litio, cisteína, dicloxacilina)
- j) Caldo MRS (Oxoid)
- k) Caldo MRS reforzado (cloruro de litio, cisteína, dicloxacilina)
- l) Tiras de anaerotest Merck
- m) Anaerocult Merck

4.4 Métodos de análisis

4.4.1 Análisis químicos

4.4.1.1 Análisis proximal

a. Determinación de humedad:

La determinación de humedad se realizó mediante el método de la AOAC 934.06 (1997)²¹.

b. Determinación de ceniza

La determinación de ceniza se realizó mediante el método de la AOAC (1997)²¹.

c. Determinación de proteína.

La determinación de humedad se realizó mediante el método Khendhal considerando 6.25 como factor de conversión del nitrógeno de la proteína AOAC (1997)²¹.

d. Determinación de grasa.

La determinación de grasa se realizó mediante el método de Soxhlet AOAC (1997.)²¹.

e. Determinación de fibra.

La determinación de fibra se realizó mediante el método de la AOAC (962.09 - 1997)²¹.

f. Determinación de carbohidratos

Se determinó por diferencia aritmética restando de 100 los porcentajes de humedad, proteína, grasa, fibra y ceniza recomendado por la AOAC (1997)²¹.

4.4.1.2 Determinación de sólidos solubles.

La determinación de sólidos solubles se realizó mediante el método de la AOAC (1997)²¹.

4.4.1.3 Determinación de pH.

Se realizó mediante el potenciómetro de acuerdo al método de la AOAC (1997)²¹.

4.4.1.4 Determinación de la concentración de azúcares

4.4.1.4.1 Determinación de la concentración de azúcares reductores

Se determinó usando el ensayo ácido dinitrosalicílico (DNS) recomendado por Miller (1959) citado por Chirinos (1999) el cual se basa en que el ácido dinitrosalicílico en medio alcalino reacciona con el grupo reductor de la glucosa formando un compuesto de color rojo cuya intensidad es proporcional a la cantidad de azúcares reductores presentes. Los azúcares reductores fueron expresados como glucosa equivalente.

Las muestras y una solución de glucosa estándar (1mL), se le añadieron a cada una la solución de DNS (1mL) y agua (1mL). La mezcla se llevó a calentar hasta ebullición por 15 minutos y después se enfrió en hielo por 2 min., se le fue añadiendo agua (9mL) y después se midió a una longitud de onda de 540nm. El contenido de azúcares reductores de la muestra se comparó con la curva estándar de glucosa ^{4, 12, 13}.

4.4.1.4.2 Determinación de la concentración de azúcares totales

Se determinó usando el espectrofotómetro y mediante el ensayo ácido sulfúrico-fenol y expresado en equivalentes de glucosa. El ensayo es calibrado con D-glucosa estándar de 0 a 100 ug/mL.

A la muestra y una solución estándar de glucosa (1mL) se le añadió la solución de fenol 5%(P/V) (1mL), luego se agregó ácido sulfúrico concentrado (5mL) y agitó por 10min. La muestra y la solución estándar de glucosa se dejaron en reposo por 20min a temperatura ambiente y después se midió en la longitud de onda de 490nm^{4, 12, 13}.

4.4.2 Análisis físicos

Se procedió a realizar los respectivos análisis morfológicos de las muestras de yacón para determinar las mejores características físicas por lo cual se le realizaron los siguientes análisis físicos.

a. Diámetro promedio

Se determinó utilizando como instrumento de medición el vernier donde se midió el diámetro de las muestras seleccionadas.

b. Longitud promedio

Se determinó utilizando como instrumento de medición una regla de 30cm de longitud.

c. Peso promedio

Se determinó utilizando como instrumento de medida una balanza analítica de 500 a 4 500g.

4.4.3 Análisis microbiológicos

4.4.3.1 Efecto del crecimiento probiótico

La mezcla de oligosacáridos obtenido de la harina de yacón y utilizando el caldo MRS para el crecimiento de 2 cepas probióticas. El inóculo de *Lactobacillus acidophilus* fue preparado para cultivo en caldo MRS a 37°C por 48 horas hasta obtener al final una concentración de 5×10^7 ufc/ml. El inóculo se diluyó con 250mL de caldo MRS para obtener

al final una concentración de 5×10^4 ufc/mL. Se preparó soluciones al 1% (p/v) de las muestras problemas y se le añadió al caldo el inóculo y se incubó a 37°C por 72 horas en condiciones anaeróbicas^{28, 29}.

La otra cepa probiótica *Bifidobacterium brevis* fue cultivada en un caldo MRS reforzado con 5mL de clorhidrato de cisteína 10%, 5mL de solución de dicloxacilina 0,01%, y 10mL de cloruro de litio por litro 0,1% al caldo, ésta combinación de la dicloxacilina, cloruro de litio (LiCl) y clorhidrato de cisteína (CysClh) inhibe las bacterias ácido lácticas y da un buen crecimiento al *B. brevis*. El inóculo de éste último fue preparado en caldo MRS reforzado a 37°C por 48 horas para obtener una concentración de 5×10^7 ufc/mL. El inóculo se diluyó con 250mL de caldo MRS reforzado para obtener al final una concentración de 5×10^4 , al cual en condiciones asépticas se le añadió las soluciones de las muestras problemas 1%(p/v) y se incubaron a 37°C por 72 horas en condiciones anaeróbicas^{28,29}.

4.4.3.2 Evaluación del crecimiento por espectrofotometría y recuento por dilución en placa.

Se tomaron muestras cada 24 horas hasta 72 horas a cada muestra se midió la absorbancia a 500nm y se le realizaron diluciones seriadas en base 10 de (-5 a -9) se sembraron por incorporación en agar MRS para *L. acidophilus* y agar MRS reforzado para *B. brevis* por duplicado, luego se incubaron en las condiciones apropiadas a 37°C por 72 horas y se realizó el recuento de ufc/mL^{28, 29}.

4.4.3.3 Metodología experimental

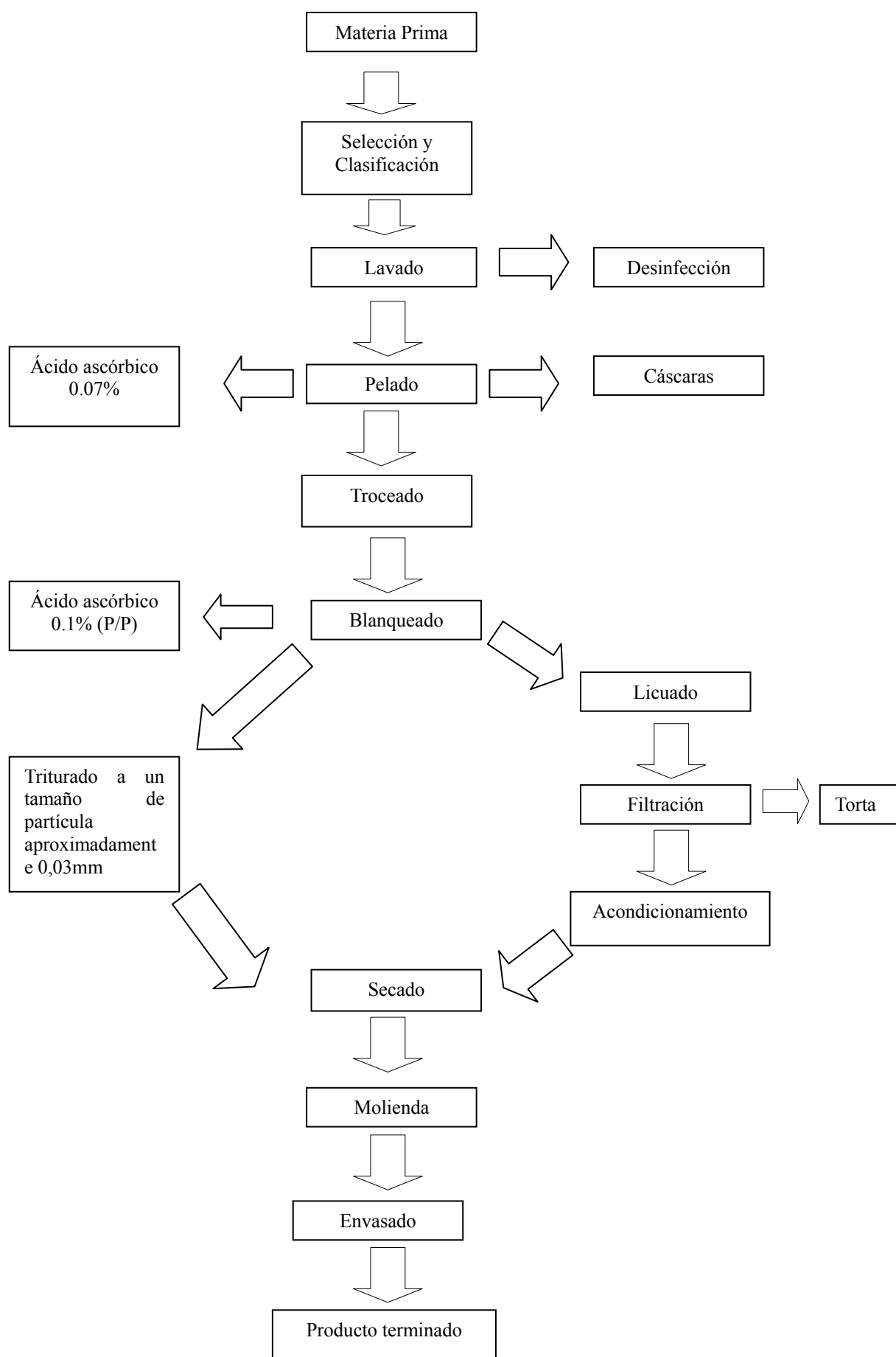


Figura 4: Diseño experimental de la elaboración de la harina de yacón

4.5 Descripción de las operaciones para obtener la harina de yacón

Se elaboró la harina de yacón, la cual se realizó de dos formas uno es mediante la molienda de la raíz y el otro es acondicionando la muestra (zumو de yacón), en los dos procedimientos se someten a las raíces a las siguientes operaciones de selección, lavado y desinfección, pelado, troceado, escaldado o blanqueado, reducción de tamaño, para la segunda forma se realiza el filtrado (para obtener el zumo de yacón, concentración en baño de agua a 60°C donde se elimina la mayor cantidad de agua contenida en la raíz), secado, molienda donde se utiliza el molino de cuchillos y por último el envasado.

4.5.1 Materia prima

Se trabajó con las muestras de yacón de la localidad de Jaipе del distrito de Lonya Grande de la Provincia de Utcubamba del Departamento de Amazonas.

4.5.2 Selección

Se seleccionó la materia prima separando las muestras que estaban golpeadas o resacas o en algunas ocasiones un poco negras debido a que se han golpeado con otras muestras o estaban en una parte peladas y debido al pardeamiento que presenta esta raíz.

4.5.3 Lavado y desinfectado

Las raíces se lavaron con agua para eliminar la tierra adherida a la superficie y otros residuos indeseables presentes.

La desinfección se realizó con una solución de hipoclorito de sodio al 2% para eliminar todo el resto de microorganismos que estén adheridos a la muestra.

4.5.4 Pelado

El pelado fue de forma manual con la ayuda de peladores de acero inoxidable, se utilizó 0.07% de ácido ascórbico como antioxidante cuya finalidad fue prevenir el pardeamiento enzimático y preservar el color del yacón ⁴.

4.5.5 Troceado

Las raíces se redujeron de tamaño a un espesor aproximado de 15mm. De esta manera se optimizó el proceso de blanqueado.

4.5.6 Escaldado o blanqueado.

Esta operación permitió someter a la materia prima a un baño de agua hirviendo (92°C) con la finalidad de: a) terminar la limpieza del producto, b) provocar la destrucción de enzimas (oxidases) que pardea el producto, c) fijar y conservar el color, d) mejorar las condiciones del material para la desecación puesto que con esta operación se rompen las paredes celulares del material vegetal lo que facilita el proceso de evaporación.

El proceso de escaldado contribuye a una esterilización parcial, puesto que la elevada temperatura que se alcanza destruye los microorganismos.

4.5.7 Reducción de tamaño

4.5.7.1 Para obtener yacón triturado

Las muestras obtenidas después del blanqueado y escaldado se procedieron a triturar empleando el molino de cuchillas a un tamaño de partícula aproximadamente 0,03 mm para mejorar el proceso de secado.

4.5.7.2 Para obtener zumo de yacón

4.5.7.2.1 Reducción de tamaño

Las muestras obtenidas después del último tratamiento se procedieron a licuar utilizando una licuadora de dos velocidades obteniéndose la pulpa de yacón.

4.5.7.2.2 Filtrado

Se sometió a un filtrado, para ello se acondicionó telas de lona (tocuyo) cuya finalidad fue eliminar las partículas que acompañaban al zumo: sólidos insolubles y restos groseros, con el fin de facilitar la evaporación y la concentración de azúcar (grados brix) ⁴.

4.5.8 Acondicionamiento

4.5.8.1 Concentración

El zumo obtenido se concentró en un equipo de baño de agua a una temperatura de 60°C hasta 20 ° brix aproximadamente con la finalidad de reducir el volumen de agua presente en la muestra y facilitar el proceso de secado ⁴.

4.5.9 Secado

En esta operación las muestras obtenidas se trasvasaron en bandejas de acero inoxidable, se procedió a eliminar el resto de agua contenida en la raíz, en un equipo de secado (estufa) a dos temperaturas de 60°C y 40°C respectivamente, ambas por un lapso de tiempo no menor de 48 horas. El proceso de secado concluyó cuando el producto se tornó duro y/o quebradizo con un color cremoso.

4.5.10 Molienda

Una vez obtenido el producto deshidratado, se procedió a la molienda donde se utilizó un molino de cuchillas obteniendo el producto final.

4.5.11 Envasado y sellado

Las muestras se envasaron continuamente después del proceso de molienda en bolsa de polietileno de alta densidad las cuales se sellaron con el fin de asegurar el aislamiento completo del medio ambiente (O₂, humedad). En esta etapa se procedió con cuidado ya que las muestras presentan actividad higroscópica por lo cual se pueden apelmazar las muestras obteniendo un producto que no cumplen con las características de harina (producto no deseado), por lo cual el envasado y sellado deben ser rápido y eficaz para contribuir con su conservación ⁴.

4.5.12 Evaluación del producto final

El producto obtenido después del proceso de elaboración de las dos formas de preparación es un polvo color crema al cual se le realizan los siguientes análisis: humedad, ceniza, proteína, grasa, fibra, carbohidratos (azúcares totales), sólidos solubles, acidez, pH y azúcares reductores y también se le realizó la actividad prebiótica.

V. RESULTADOS

5.1 Caracterización físico – química

A las raíces de yacón procedentes de la provincia de Amazonas se le realizaron los siguientes análisis químicos (humedad, ceniza, proteína total, fibra, grasa, carbohidratos (azúcares totales), azúcares reductores, pH, sólidos solubles) y se obtuvieron los siguientes resultados

Tabla 5. Características fisicoquímicas de la muestra de raíz de yacón

Componentes	
Humedad	88.45%
Ceniza	0.35%
Proteína total	0.96%
Fibra	0.86%
Grasa	0.01%
Carbohidratos (azúcares totales)	9.37%
Azúcares reductores	0.69%
pH	6.58
Sólidos solubles	8.6%

5.2 Caracterización física

A las muestras de yacón procedentes de la provincia de Amazonas se les realizó un análisis morfológico: peso (g), diámetro central (cm), longitud de la raíz (cm) donde se obtuvieron los siguientes resultados ver anexo 2

Tabla 6 Características físicas de la muestra de raíz de yacón

	Promedio	Mínimo	Máximo
Peso	401.64g	260.95g	715.95g
Diámetro central	4.25cm	2.30cm	5.45cm
Longitud	21.71cm	15cm	25cm
Color de la pulpa	Amarillo		
Color de la cáscara	Marrón		

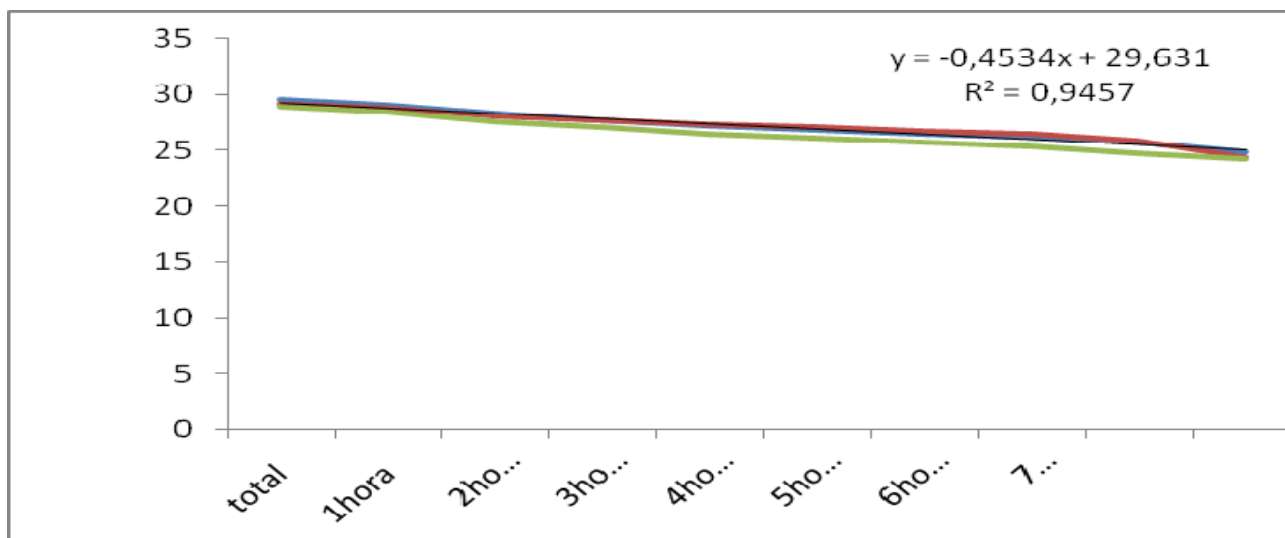
5.3 Influencia de la temperatura de secado

Se desarrolló una curva de secado a 60 °C de la muestra para obtener en que tiempo la muestra presentara una humedad inferior al 10% y observar la influencia de la temperatura en el principio activo del producto.

Tabla 7. Valores de peso de la muestra (gramos) a diferentes tiempos (horas)

	peso de pesa filtro	peso de la muestra	Total	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	24h
1	24.5	5.034	29.54	29.03	28.24	27.69	27.15	26.81	26.44	26.17	25.67	24.82
2	24.06	5.074	29.13	28.76	28.05	27.66	27.36	27.08	26.72	26.47	25.78	24.36
3	23.86	5.044	28.91	28.45	27.54	27.08	26.44	26.06	25.69	25.35	24.71	24.2

Figura 5. Curva de variación de la raíz de yacón durante el período de secado.



5.4 Caracterización del producto obtenido

5.4.1 Composición físico-química

Se realizó el análisis proximal para cuantificar los componentes de las dos muestras de harina de yacón obtenidas.

Tabla 8. Composición proximal de las dos muestras de harina de yacón obtenidas.

Componentes	Forma 1	Forma 2
Humedad	2.58%	2.30%
Ceniza	3.09%	2.98%
Proteína total	5.52%	5.5%
Fibra	0.85%	0.0%
Grasa	0.93%	1.07%
pH	4.40	4.49

5.4.2 Determinación de concentración de azúcares totales y reductores de la materia prima y de las harinas de yacón obtenidas:

La determinaciones de azúcares totales y reductores de la raíz y de las muestras de harina de yacón obtenidas se realizaron mediante los ensayos fenol – ácido sulfúrico y ácido dinitro salicílico en donde se realizaron dos curvas de calibración respectivamente:

Tabla N°9 Pesos de las muestras (gramos)

Muestra	Peso (g)
Raíz	1,0025
Harina forma 1	1,0049
Harina forma 2	1,0081

Tabla N° 10 Resultados del ensayo de azúcares totales (absorbancias)

concentración (ppm) de D - glucosa	absorbancia
200	0,036
400	0,214
600	0,372
800	0,523
1000	0,7
Raíz	0,629
Harina forma 1	0,577
Harina forma 2	0,588

Figura N°6 curva de calibración de azúcares totales

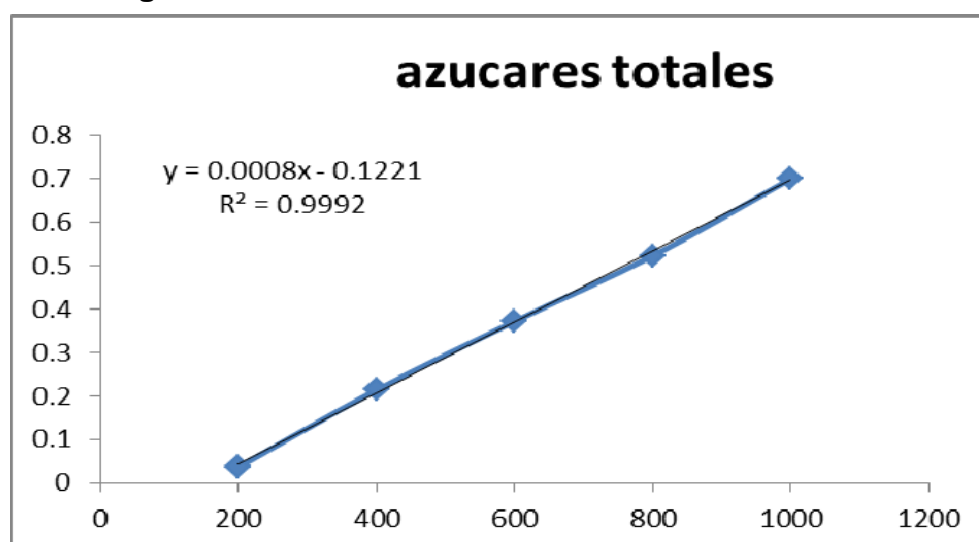


Tabla N°11 Resultados del ensayo de azúcares reductores (absorbancias)

concentración de D-glucosa (ppm)	absorbancia
200	0,054
400	0,207
600	0,388
800	0,54
1000	0,704
Raíz	-0,055
Harina forma 1	0,503
Harina forma 2	0,616

Figura N°6 Curva de calibración de azúcares reductores

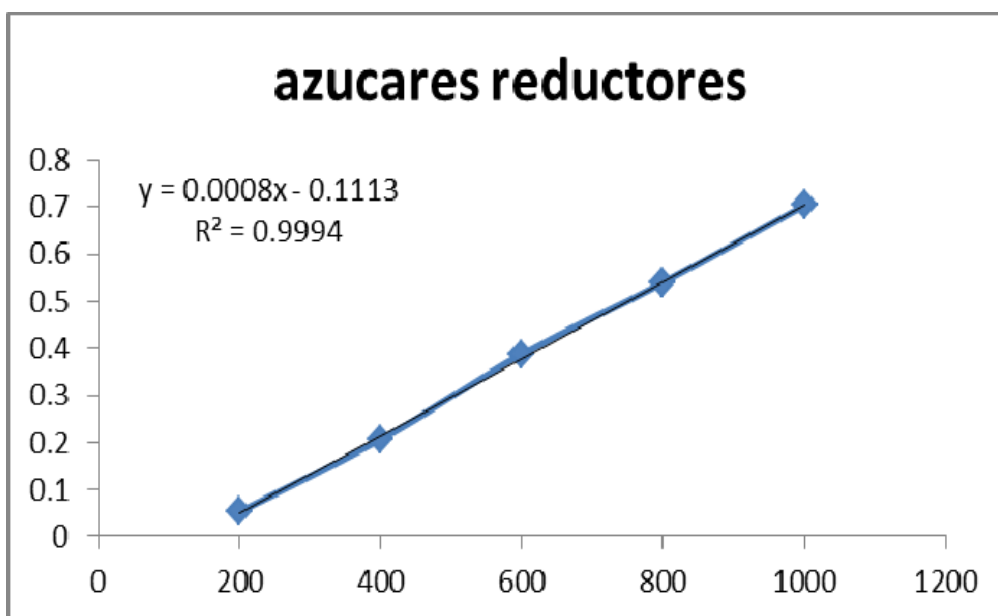


Tabla N° 12 Resultados de las muestras en porcentaje centesimal

	Raíz	Harina forma 1	Harina forma 2
Azúcares totales	9,37%	87,03%	88,15%
Azúcares reductores	0,69%	7,65%	9,03%

5.4.3 Análisis microbiológico

En las siguientes tablas se presentan el recuento en placa del inóculo y las absorbancias de *Lactobacillus acidophilus* sin muestra y con las dos formas de harina de yacón.

Tabla 13. Recuento en placa de *L. acidophilus* sin harina de yacón y con el suplemento de ambas muestras hasta las 72 horas ver anexo 4

Muestra	Recuento microbiano (UFC/g)			
	0h	24h	48h	72h
Inóculo	3×10^4	1.0×10^6	2×10^7	5×10^8
Harina forma 1	5×10^4	1.08×10^6	4×10^7	7×10^8
Harina forma 2	6×10^4	1.94×10^6	7×10^7	1.3×10^9

Tabla 14. Absorbancias de *L. acidophilus* sin harina de yacón y con el suplemento de ambas muestras hasta las 72 horas ver anexo 3

Muestra	Absorbancias			
	0h	24h	48h	72h
Inóculo	0.016	0.243	0.464	0.908
Harina forma 1	0.032	0.105	0.433	0.939
Harina forma 2	0.072	0.127	0.453	0.984

El análisis se realizó por triplicado, se presentan los promedios de los resultados.

Para el recuento microbiano de *Bifidobacterium brevis* de manera similar al anterior, se muestra el recuento en placa del inóculo y las absorbancias sin muestra y también con las dos formas de harina de yacón.

Tabla 15 Recuento de *B. brevis* sin harina de yacón y con el suplemento de ambas muestras hasta 72 horas ver anexo 6

Muestra	Recuento microbiano (UFC/g)			
	0h	24h	48h	72h
Inóculo	3×10^4	1.0×10^6	2×10^7	1.10×10^8
Harina Forma 1	5×10^4	1.28×10^6	4×10^7	2.3×10^8
Harina Forma 2	6×10^4	2.43×10^6	7×10^7	2.78×10^8

Tabla 16. Absorbancias de *B. brevis* sin harina de yacón y con el suplemento de ambas muestras hasta 72 horas ver anexo 5

Muestra	Absorbancias			
	0h	24h	48h	72h
Inóculo	0.019	0.243	0.433	0.581
Harina Forma 1	0.029	0.274	0.453	0.608
Harina Forma 2	0.038	0.296	0.464	0.624

El análisis se realizó por triplicado y se muestran los promedios de los resultados obtenidos.

VI. DISCUSIÓN

En la tabla N°5 muestra los resultados de la composición química del yacón. Se encontró 88,45% de humedad valor elevado al determinado por Mindani⁴ (2008) de 86,43%, sin embargo algo equivalente de los resultados reportados por Faustino² (2012), y Chivarry⁵ (2007) cuyos resultados fluctúan entre 87,9 y 90,5%.

El contenido de proteínas 0,96% es equivalente al resultado de Mindani⁴ (2008) cuyo resultado fue de 1,04% pero elevado de los resultados reportados por Faustino² (2012) y Chivarry⁵ (2007) de 0,3 y 0,35 respectivamente, las variaciones en los resultados se puede atribuir a la practicas de agricultura empleados para su cultivo además de la diferenciación de las provincias, ya que las muestras analizadas pertenecen a la provincia de Chachapoyas.

El contenido de fibra 0,86% es equivalente al reportado por Mindani⁴ (2008) y está dentro del rango reportado en el congreso internacional de cultivos andinos (1997) de 0,3 a 1,7% mientras que los resultados de ceniza es 0,35 cuyo resultado es menor al reportado por Mindani⁴ (2008) pero mayor al establecido en el congreso internacional de cultivos andinos de 0,03 a 0,2%.

El contenido de carbohidratos fue de 9,37% valor que se encuentra por debajo de los valores reportados por Mindani⁴ (2008) y Faustino² (2012) cuyos valores son 11,26 y 10, 76% respectivamente. El yacón es considerado como una fuente rica de carbohidratos ya que esto representa alrededor del 90% de su peso seco de los cuales entre 50 y 70% son oligofructanos, el resto está conformado por unidades de sacarosa, fructosa y glucosa, sin embargo la composición relativa de los diferentes azúcares varían significativamente debido a diferentes factores como son el cultivó, la época de siembra, la cosecha, el tiempo y temperatura de post cosecha, entre otros.

Se encontró 8,6° brix valor muy por debajo al reportado por Mindani⁴ (2008) de 12° brix, sin embargo dentro del rango reportado por Melgarejo mencionada por

Mindani⁴ (2008) rango de 6,6 a 12,6° brix con un promedio de 9,6° brix para cultivos bajos condiciones de Oxapampa – Perú. Al mismo tiempo indico que los sólidos solubles pueden variar dependiendo de la entrada y tiempo transcurrido entre la recolección y la evaluación.

El pH fue de 6,58 valor por encima al reportado por Mindani⁴ (2008) valor que fue de 6,2.

En la tabla N° 6 se presentan las características físicas del yacón, se obtuvo 4,25 cm; 21,71 cm; 401,64 g de diámetro central, longitud y peso respectivamente, valores que son menores al reportado por Mindani⁴ (2008) cuyos valores son 6,1 cm; 22,3 cm; 439 g.

En el diseño experimental para la elaboración de la harina de yacón se revisaron varios trabajos para obtener el procedimiento adecuado para proceder a la elaboración de la harina de yacón, Mindani⁴ (2008) y de Faustino² (2012) en donde sus diseños experimentales coinciden hasta el punto de secado de la muestra en donde varían, los tipos de secado que utilizaron para transformar la raíz y obtener un producto estable son: el secado por liofilización y el atomizado respectivamente.

Las muestras se seleccionaron de acuerdo al tamaño, peso, estado de la materia prima (que no esté deterioradas, que no presenten golpes y que no tengan partes negras), se procedió a lavar y se desinfecto con una solución de hipoclorito de sodio 2% (eliminación de la carga microbiana presente en la cascara de yacón), el descascarado se realizó manualmente seguido de las muestras, se sumergieron en una solución de ácido ascórbico 0,7% para evitar el ennegrecimiento de la pulpa, a continuación se realizó el troceado de la muestra y luego se realizó el blanqueado: en este punto del diseño experimental se tomó en cuenta dos puntos claves que son: la concentración de ácido ascórbico y el tiempo en que la muestra se encontro sumergida con la finalidad de lograr la inactivación de la actividad enzimática presente en la pulpa, para lo cual se desarrollaron varias pruebas pilotos para obtener el tiempo adecuado, el cual fue de 30 min, continuamente se procedió a la

elaboración de la harina de yacón y se optó por dos formas, una de ellas fue la trituración o molienda de la muestra, el otro procedimiento fue el acondicionamiento de la muestra, el cual consistió primero en licuar la muestra y se filtro en donde se elimina las fibras insolubles presentes en la muestra y se procedió con la concentración en baño de agua a una temperatura de 60°C hasta una concentración de 20°brix aproximadamente, en este tipo de elaboración se está eliminando la cantidad de agua presente en la muestra dejando el agua de constitución de la muestra, otro elemento que se está eliminando es la fibra insoluble de la muestra favoreciéndole en el proceso de secado obteniendo con menor tiempo la harina de yacón.

Continuamente se realizó el proceso de secado a temperaturas de 60 y 40°C se tomó estas dos temperaturas por el tema de termo estabilidad de los principios activos de la muestra y para no caramelizar los productos a obtener y así obtener el mayor rendimiento en la obtención de los fructo-oligosacáridos una vez que la muestra estuvo quebradiza se procedió a la molienda y el envasado; esta etapa del diseño experimental fue una parte fundamental en la elaboración de este producto, ya que al terminar el proceso de secado la muestra presento un carácter higroscópico por el cual el envasado debe ser de forma rápida y aséptica debido a la contaminación que pueda ocurrir, o al carácter higroscópico y no obtener el producto deseado.

En la tabla N°8 se muestra los resultados físico-químicos en donde se observan que las muestras de harina obtenidas presentaron una humedad de 2,58 y 2,30% casi equivalente al producto obtenido por Mindani⁴ (2008) es 2,32, valores que posiblemente fluctúen por el tipo de diseño de elaboración y de obtención y en comparación con el análisis de la muestras frescas se ve una gran disminución en el contenido de humedad ya que al inicio la muestra presento un valor de humedad de 88,45%, es decir hay una gran disminución del contenido de humedad de la muestra.

El contenido de proteínas y de ceniza de las muestras fueron de 5,52; 5,50; 3,09 y 2,98 respectivamente valores equivalentes obtenidos por Mindani⁴ (2008) 5,52; 2,98 pero superiores a los valores del producto fresco, lo que

indica que al disminuir el contenido de agua presente en la muestra fresca otros componentes elevan su contenido.

El contenido de grasa y fibra de las dos muestras de harina fueron de 0,93g; 1,07g y 0,85g; 0,0g lo cual indica que el porcentaje de grasa de la forma 1 es elevada y el porcentaje de fibra es nulo debido a que la harina forma 2 se acondiciona eliminando toda la fibra insoluble presente pero estos valores son equivalentes a los obtenidos por Mindani⁴ (2008) de 1,05g y 0,0g.

El contenido de carbohidratos presente en la muestras de harina fue de 87,03 y 88,15% valores equivalentes a los obtenidos por Mindani⁴ (2008) de 88,13% valores muy superiores al producto fresco de 9,37% lo cual indica que el yacón es una fuente muy rica de carbohidratos.

El poder de disolución que se observó pero no se pudo determinar es elevado en la muestra de harina forma 2 que la de forma 1, esto se debe a la presencia de fibra insoluble en la de forma 1 pero se observa que el valor del pH de las muestra es de 4,49; 4,40 respectivamente valores por debajo al producto fresco 6,58, esto se debería al procedimiento de elaboración de la harina por que se utiliza el ácido ascórbico como antioxidante pero estos valores son equivalentes al obtenido por Mindani⁴ (2008) de 4,55.

Los resultados físico-químicos obtenidos de los dos tipos de harina fueron equivalentes a los obtenidos por Mindani⁴ (2008) esto se debe a que el diseño experimental que se realizó es muy parecido al de ella solamente la diferencia se debe a la forma de secado, ya que ella utilizó la forma liofilizada que es una forma de obtener un producto mucho más estable al de secado por estufa a dos temperaturas para obtener harina de yacón.

Como se observa en los anexos 3, 4, 5 y 6 sobre el crecimiento de los microorganismos vs tiempo medidos por espectrofotometría y en el recuento en placa ambos resultados llegaron a un pico máximo de crecimiento a las 72 horas. Se aprecia que las mediciones por espectrofotometría se correlacionan con el recuento por UFC/g debido a que el crecimiento de los microorganismos

genera cierta turbidez.

Las harinas de yacón preparadas en el laboratorio con los cuidados respectivos y usando el agar MRS para *L. acidophilus* y el MRS-mod para *B. brevis*, demuestran que los azúcares presentes en las harinas estimulan el crecimiento de *L. acidophilus* incrementando su número: harina forma 1 de 5×10^4 a 7×10^8 , harina forma 2 de 6×10^4 a 1.3×10^9 UFC/mL durante las 72 horas, sin embargo el inóculo también tuvo un significativo crecimiento de 3×10^4 a 5×10^8 observándose que la harina forma 2 presenta una marcada diferencia en el crecimiento de esta bacteria de la harina forma 1 y del inóculo.

Las harinas también estimulan el crecimiento de *B. brevis* incrementando su número de: harina forma 1 de 5×10^4 a $2,3 \times 10^8$; harina forma 2 de 6×10^4 a $2,78 \times 10^8$ durante 72 horas, pero el inóculo también tuvo un significativo crecimiento de 3×10^4 a $1,10 \times 10^8$ donde se observa que los azúcares presentes en las harinas no presentan mucha influencia en el crecimiento del *B. brevis*, ya que no se observa una gran diferencia entre el inóculo y las dos muestras de harina.

Las muestras de harina de yacón presentan una cierta influencia sobre el crecimiento de los microorganismos *L. acidophilus* y *B. brevis* donde se observa que la forma 2 presenta mucha más influencia en el crecimiento de estos microorganismos, esto se presume a que esta muestra puede contener mayor concentración de azúcares como: los fructo-oligosacáridos, azúcares reductores que son necesarios para el crecimiento de estos microorganismos.

VII. CONCLUSIONES

1. Se logró optimizar dos formas de elaboración de harina de yacón, donde las operaciones a seguir para ambas son: selección, lavado y desinfección, pelado, troceado, escaldado o blanqueado, reducción de tamaño pero para la forma dos se realizó el filtrado, la concentración en baño de agua a 60°C hasta 20° Brix se continua en ambas secado, molienda y el envasado.
2. El contenido de azúcares en la harina de yacón, en la forma uno fue de 87,03% de azúcares totales, 7,65% de azúcares reductores y en la forma dos fue de 88,15% de azúcares totales y 9,03 de azúcares reductores observándose que en la segunda forma se obtuvo mayor concentración de carbohidratos.
3. Los azúcares presentes en las harinas de yacón influyen positivamente en el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus* incrementando su número de 5×10^4 a 7×10^8 ufc/g en la forma uno, 6×10^4 a 13×10^8 ufcg en la forma dos, también estimulan el crecimiento de *Bifidobacterium brevis* incrementando su número de 5×10^4 a 2.3×10^8 ufc/g en la forma uno, 6×10^4 a $2,78 \times 10^8$ ufc/g en la forma dos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santana I, Cardono MH. Raíz tuberosa de yacón (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidades de cultivos, aspecto tecnológicos e nutricionales. Ciencia Rural, Santa Maria. 2008; 38: 898 – 905.
2. Faustino AC, Tesis Extrato Acuoso de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) deshidratado por atomizacão. Universidad Federal de Goias, *Goiania*. 2012.
3. Seminario J, Valderrama M, Manrique I. Yacón: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio Centro internacional de la Papa. Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE) Lima - Perú. 2003, 60p
4. Mindani CG. Tesis Influencia de las condiciones de proceso en el secado por liofilización del yacón (*Smallanthus sonchifolius*). Universidad Nacional Agraria la Molina .Lima – Perú 2008
5. Chivarry Torres RCA. tesis Influencia de las condiciones de Almacenaje del yacón fresco (*Smallanthus sonchifolius*) en sus compuestos bioactivos. Universidad Nacional Agraria la Molina Lima – Perú 2007.
6. Vilhena S, Camara F, Piza I Lima GPP Contenido de fructanos en Raíces Tuberosas de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*). *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*. 2003. 4:35 – 40.
7. Valentova K, Stejskal D, Bartek J, Dvorackova S, Kren V, Ulrichova J, Simanek V. Maca (*Lepidium meyenii*) and Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) in combination with silymarin as food supplements: In vivo safety assessment. *Science Direct*. 2007.46: 1006 – 1013.
8. Genta S, Cabrera W, Habib N, Pons J, Manrique- Carillo I, Grau A, Manchez S. Yacón syrup: Beneficial effects on obesity and insulin

- resistance in humans. *Clinica Nutrition*. 2009. 28:182 – 187.
9. Chacon A. Perspectiva agroindustriales actuales de los oligofructosacáridos (FOS). Universidad de Costa Rica Agronomía Mesoamericana. 2006. 17: 265 – 286.
 10. Yun J.W Fructooligosaccharides occurrence preparation and applications. *Enzyme and Microbial Technology*. 2004. 19: 107 – 117.
 11. Mabel MJ, Sangeetha PT, Platel K, Srinivasan, Prapulla K. Physicochemical characterization of fructooligosaccharides and evaluation of their suitability as a potential sweetener for diabetics. *India Science Direct*. 2008. 343: 56 – 66.
 12. López D, Navarro-Martínez MD, Rojas F., Hiner AN, Chazarra S, Rodríguez-López JN. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus L.*) Universidad de Murcia España. *Phytochemistry*. 2005. 66: 1476 -1484.
 13. Wichienchot S, Jatupornpipat M, Rastall RA. Oligosaccharides of pitaya (*Dragon fruit*) flesh and their prebiotic properties. *Food Chemistry*. 2010. 120: 850 – 857.
 14. Ojansivu I, Ferreira CL, Salminen S. Yacón, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Food Science e Technology*. 2010. 20: 1 – 7.
 15. Carvalho SM. Tesis para doctor en agronomía Ciclo de cultivo e técnicas pós-colheita de yacón (*Polymnia Sonchifolia* Poep. Endl.) em função do conteúdo de frutose total nos órgãos subterrâneos Universidade Estadual Paulista Brasil São Paulo – Brasil 2001.

16. Crittenden RG, Playne MJ. Production, properties and applications of food – grade oligosaccharides *Food Science & Technology*. 1996. 7: 157-188.
17. Rodriguez A, Mancini J, Parisi E, Cocato ML, Colli C. Effects of dietary lipid composition and inulin-type fructans on mineral bioavailability in growing rats. *Univ of Sao Paulo Brasil Nutrit*. 2009. 25: 216 – 225.
18. Avila J. Estudio de bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus* como potenciales probióticos para ser usados como aditivos en alimentación animal Universidad Central de Venezuela Caracas – Venezuela . 2008
19. Escobar L, Rojas C, Giraldo G, Padilla L. Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus casei* y producción de ácido láctico usando como sustrato el suero de leche de vacuno. *Univ. Quindío Rev*. 2010. 20: 42 – 49.
20. Kaplan H, Hutckins R. Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. *App and Environm Microb*. 2003. 69(4): 2217-2222.
21. Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C) (1997) “Official methods of analysis” 16th Ed. 3rd Revision.
22. Kono, T, Production, properties and applications: fructooligosaccharides, In T, Nakakuki (Ed), *Oligossaccharides* London 1993; 3: 55 – 78.
23. Genta, SB. Cabrera WM, Grau, A, & Sanchez SS, Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacón) roots as a diet supplement in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 2005; 43: 1657 – 16665.
24. Genta S, Cabrera W, Habib N, Pons J, Manrique Carillo L, Grau A, et al, Yacón syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clinical Nutrition*, 2009; 28: 182 – 187

25. Rivera, D., Manrique, I., Zumo de yacón – ficha técnica. Centro Internacional de la Papa (CIP) Lima – Perú, 2005
26. Valentova, K, & Ulrichova J. Maca (*Lepidium meyenii*) and yacón (*Smallanthus sonchifolius*) in combination with silymarin as food supplements in vivo safety assessment. Food and Chemical toxicology 2003; 46 :(3), 1006 .1013.
27. Pedreschi R, Campos D, Noratto, G, Chirinos R, & Cisneros – Zevallos, L, Andean yacón root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp, Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003; 51: 5278 – 5284.
28. Fernando Escobar L, Rojas CA, Giraldo GA., y Padilla Sanabria L, Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus casei* y producción de ácido láctico usando como sustrato el suero de leche vacuno Colombia, Rev. Invest Universidad Quindio 2010; 20: 42 – 49
29. Borbolla D, Mayorga L, Santos EM, Azaola A. y Gutierrez A, Comparación del crecimiento de *Bifidobacterium infantis* al utilizar diferentes fuentes de carbono, Universidad Autonoma Metropolitana – Xochimilco México DF- México 2009.
30. Sungsoo S, Cho E, Fincchiaro T. Handbook of prebiotics and probiotics ingredients health benefits and food applications CRC press Taylor & Francis Group, Estados Unidos de America 2010
31. Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt. EThe prokaryotes a Handbook on the biology of bacteria Springer Estados Unidos de America vol. 3, 2006

IX. ANEXOS

ANEXO 1.

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P N° 3796
Teléfono: 6590223
Movil: 980170139
e-mail: joricampos@yahoo.es



CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO. CBP N° 3796.

CON APROVACIÓN DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA, INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES E IDENTIFICACIONES DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA Y FAUNA SILVESTRE-RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0218 – 2011-AG-DGFFS-DGEFFSEN.

Certifica:

Que, **Daniel Angel Coronado Panta**, estudiante, con código 06040072, en la Facultad de Farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con fines de investigación, ha solicitado la certificación botánica de la planta conocida con el nombre vulgar de “**yacón**”, proveniente de la localidad de JAIPE, del distrito de Lonya Grande de la Provincia de Utcubamba del departamento Amazonas. La muestra ha sido estudiada y clasificada científicamente como: ***Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.** Según el sistema de clasificación de Arthur Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas:

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MANOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: ASTERALES
FAMILIA	: ASTERACEAE
GENERO	: <i>Smallanthus</i> Mack.
ESPECIE	: <i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H. Rob.

Nombre vulgar: “**yacón**”

Se expide la presente certificación para los fines que se estime conveniente.

Lima, 05 de diciembre del 2011



Calle Sánchez Silva 156 2° piso. Urbanización. Santa Luzmila – Lima 07 Pag. 1

ANEXO 2

Análisis Morfológico

Las muestras de yacón procedentes de la provincia de Amazonas se les realizaron un análisis morfológico y se obtuvieron los siguientes datos:

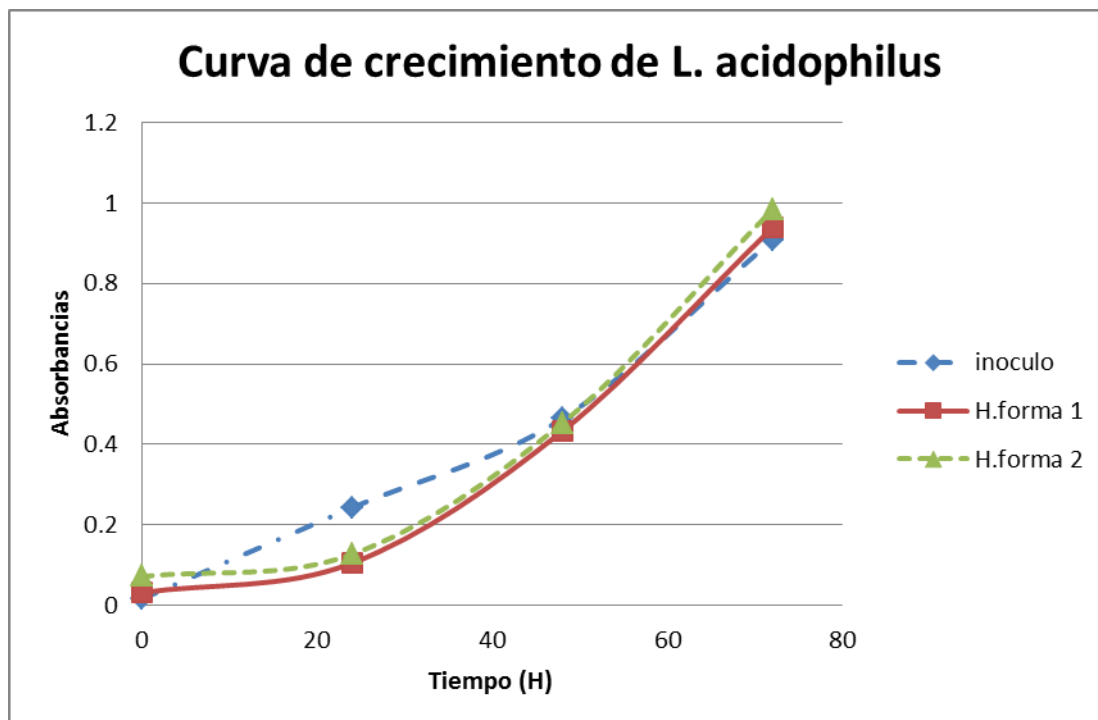
muestra	peso (g)	diámetro central (cm)	longitud (cm)	color de la pulpa
1	381.10	2.3	18.5	blanco amarillento
2	436.00	3.8	22.7	blanco
3	506.85	4.75	20.8	blanco amarillento
4	396.00	5.45	18.5	blanco
5	530.15	4.45	22.1	amarillento
6	462.10	3.95	23.05	blanco amarillento
7	269.05	4	18.65	blanco amarillento
8	277.00	3.9	22.1	blanco amarillento
9	389.00	4.7	24.8	blanco amarillento
10	353.80	3.65	24.5	amarillento
11	260.95	3.9	15	blanco amarillento
12	389.05	4.45	23.5	blanco
13	473.85	4.6	25	blanco amarillento
14	398.30	5	22.8	blanco amarillento

15	353.75	4.45	20.5	blanco amarillento
16	715.95	4.5	24	blanco amarillento
17	268.65	4.1	21.2	blanco
18	466.25	4.35	24.7	blanco amarillento
19	353.95	3.9	23.2	amarillento
20	351.05	4.7	18.5	amarillento
promedio	401.64	4.25	21.71	
minimo	260.95	2.30	15.00	
maximo	715.95	5.45	25.00	

ANEXO 3

Curva de crecimiento de la cepa probiótica *Lactobacillus acidophilus*

tiempo	absorbancias		
	inoculo	H. forma 1	H.forma .2
0	0.016	0.032	0.072
24	0.243	0.105	0.127
48	0.464	0.433	0.453
72	0.908	0.939	0.984



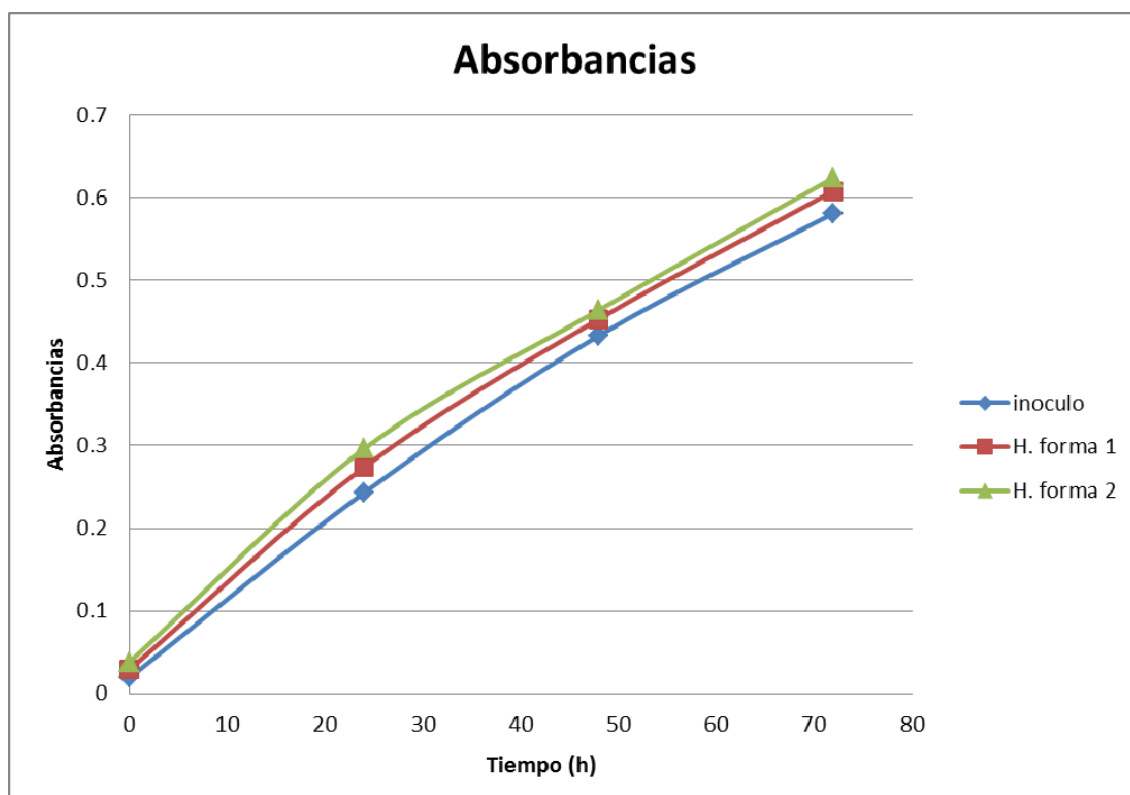
*H1: harina de yacón forma 1

*H2: harina de yacón forma 2

ANEXO 4

Curva de crecimiento de la cepa probiótica *L. acidophilus*

tiempo (H)	recuento total microbiano (ufc/mL)					
	inóculo		H. forma 1		H. forma 2	
		exp.		exp		exp
0	3x10	4	5x10	4	6x10	4
24	1x10	6	1,08x10	6	1,94x10	6
48	2x10	7	4x10	7	7x10	7
72	5x10	8	7x10	8	1,3 x10	9



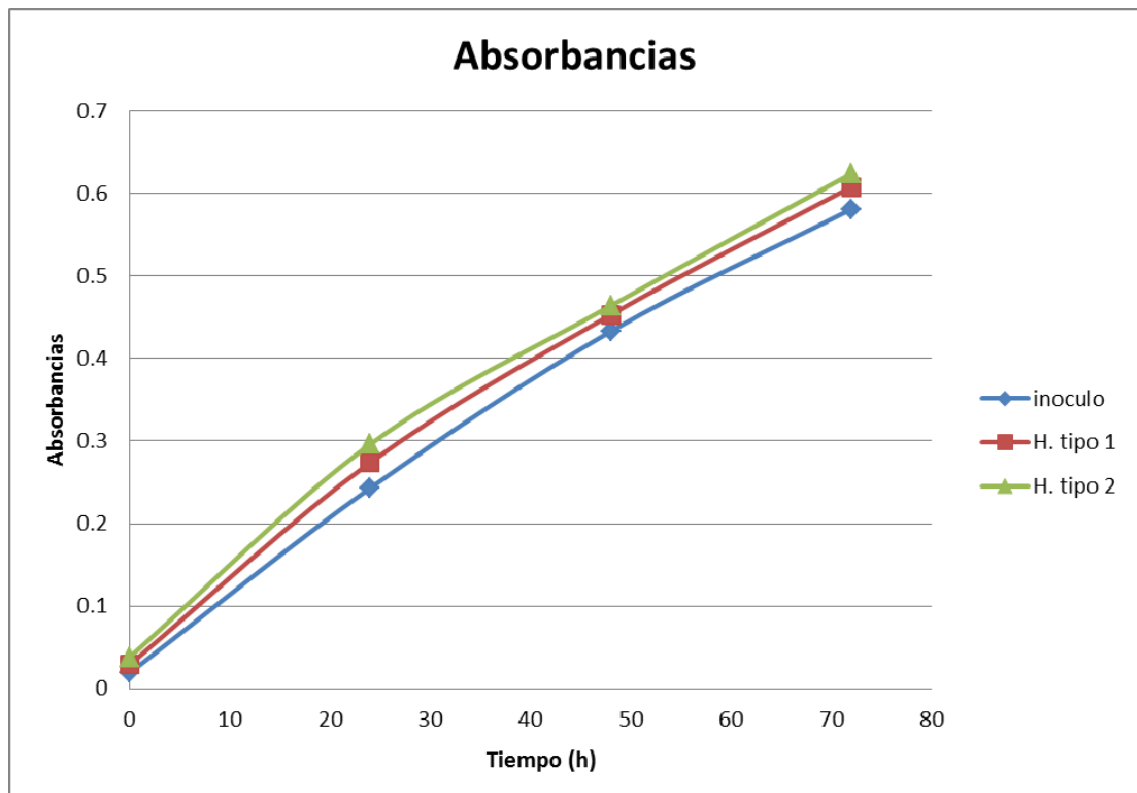
* H1: harina de yacón forma1

*H2: harina de yacón forma 2

ANEXO 5

Curva de crecimiento de la cepa prebiótica *B. brevis*

tiempo (h)	Absorbancias		
	inoculo	H. forma 1	H. forma 2
0	0.019	0.029	0.038
24	0.243	0.274	0.296
48	0.433	0.453	0.464
72	0.581	0.608	0.624

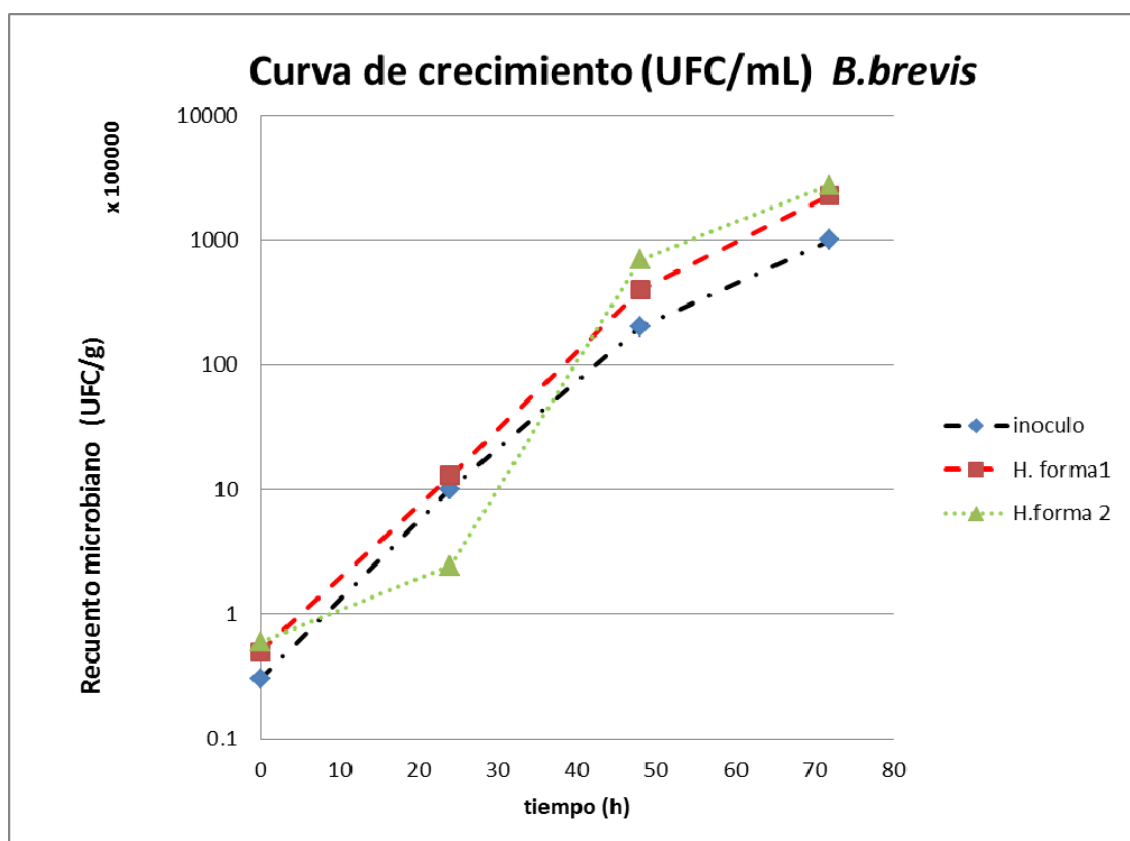


H. tipo1 = harina de yacón forma1
H. tipo 2= harina de yacón forma 2

ANEXO 6

Curva de crecimiento de la cepa probiótica *B. brevis*

tiempo (H)	recuento total microbiano (ufc/mL)					
	inóculo		H. forma 1		H. forma 2	
		exp.		exp		exp
0	3x10	4	5x10	4	6x10	4
24	1x10	6	1,28x10	6	2,43x10	6
48	2x10	7	4x10	7	7x10	7
72	1x10	8	2,3x10	8	2,78x10	8



H. tipo1 = harina de yacón forma 1

H. tipo 2= harina de yacón forma 2